


RSITY
NESOTA




ARCHIV
FÜR
HYGIENE




U OF M.







ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

ZWEIUNDFÜNFZIGSTER BAND.

MÜNCHEN UND BERLIN.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1905.

Inhalt.

Die chemischen Veränderungen des Fleisches beim Schimmeln (Penicillium glaucum und Aspergillus niger).

Von

Dr. P. W. Butjagin,

Assistent am Hygienischen Institut in Tomsk.

(Aus dem Hygienischen Institut in Würzburg.)

(Mit 2 Tafeln.)

I. Literatur.

Über die Einwirkung von Schimmelpilzen auf Nahrungsmittel existieren noch nicht viele Untersuchungen, und zwar sind fast nur vegetabilische Nahrungsmittel untersucht.

Welte[1]) hat die Veränderung in der Zusammensetzung des Brotes unter Einwirkung dreier Arten von Schimmel untersucht: Penicillium glaucum, Aspergillus nidulans und Mucor stolonifer. Bei diesen Untersuchungen gelangte der Verfasser zu folgenden Ergebnissen. Penicillium glaucum und Aspergillus nidulans verzehren vor allem die Kohlehydrate des Brotes; dadurch ist eine beträchtliche Ausscheidung von CO_2 und eine Verringerung des festen Restes bedingt; auch mit dem Eiweifs geht eine wesentliche Veränderung vor sich, die in der Vermehrung der im Wasser leicht löslichen Verbindungen des Stickstoffes ihren Ausdruck findet; dabei bleibt aber die gesamte Menge N im Brote unverändert. Das bei der Zersetzung der Kohlehydrate ausgeschiedene CO_2 wurde von Welte quantitativ bestimmt. Auch

1) Welte, Biologische und pathologische Untersuchungen über das Verschimmeln des Brotes. Archiv f. Hygiene, XXIV.

ist es dem Verfasser gelungen, einige Besonderheiten in der Wirkung zu konstatieren, welche nur einigen Arten des Schimmels eigen sind: so kann man nach Welte bei Aspergillus nidulans die Bildung von NHO_3 wie auch die von Alkohol beobachten, die offenbar bei anderen Arten nicht stattfindet.

Hebebrand[1]), der ungefähr zur gleichen Zeit mit Welte, aber unabhängig von ihm arbeitete, ist bezüglich der Veränderung des Brotes unter Einwirkung von Schimmel zu einem Ergebnis gelangt, das mit dem angeführten von Welte im allgemeinen vollständig übereinstimmt. Hebebrand fand bei seinen Versuchen mit Penicillium glaucum eine Verminderung der Kohlehydrate im Brote, ferner Amide und eine Verringerung des Quantums des Reinproteins. Als Resultate der Zersetzung, welche infolge der Entwicklung des Penicillium glaucum entstand, fand Hebebrand CO_2, aber NH_3 und Alkohol hat er nicht gefunden. Das Quantum des Fettes und der Rohfaser im Brote wird sogar gröfser, was nach der Meinung des Autors bedingt wird von dem Gehalt dieser Stoffe in der entwickelten Kultur der Schimmelpilze.

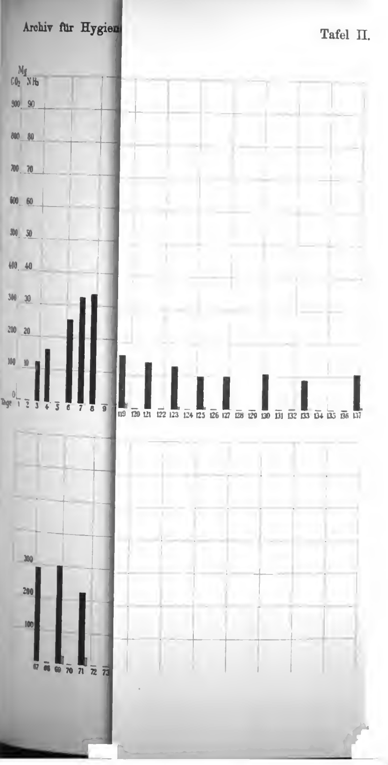
Scherpe[2]) gelangte bei seinen Untersuchungen des Roggens und Weizens, die der Wirkung des Schimmels ausgesetzt waren, zu folgenden Resultaten. Der Substanzverlust — bei schwacher Entwicklung des Schimmelpilzes — ist verhältnismäfsig nicht grofs, er wird bedeutender — bei starker Entwicklung des Schimmels — bei Weizen und besonders bei Roggen. In dem Mafse wie der Schimmel sich entwickelt, beobachtet man auch Verluste an fast allen wesentlichen Bestandteile des Roggens und Weizens; dabei geht ein relativ grofses Quantum von Stickstoff auch schon bei einer geringen Entwicklung des Schimmels verloren; auch der Fettgehalt wird geringer, allein in gröfserem Mafsstabe geschieht es erst bei stärkerem Anwachsen der Schimmel-

1) Hebebrand, Über die Veränderungen des Brotes beim Schimmeln. Hygien. Rundschau, 1892.

2) Scherpe, Die chemischen Veränderungen des Roggens und Weizens beim Schimmeln und Auswachsen. Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt, Bd. XV.

ion.

ist zehnmal größer als NH_3-Maßstab.


Mg
CO2 NH3
900 90
800 80
700 70
600 60
500 50
400 40
300 30
200 20
100 10
0
Tage 1 2 3 4 5 6 7 8 9
119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137
300
200
100
67 68 69 70 71 72 73

pilze. Das Quantum der löslichen Kohlehydrate wird bei Roggen zuerst gröfser, nachher bedeutend kleiner, während bei Untersuchungen des Weizens eine unbedeutende Zunahme dieser Kohlehydrate bemerkt wurde. Ferner wird die Menge des Reinproteins zu Beginn des Versuches gewöhnlich gröfser, später aber — bei stärkerer Entwicklung des Schimmels — kleiner. Die Veränderungen des Gehaltes an wasserlöslichen Stoffen sind unbedeutend; das Quantum NH_3 wird nur bei einer stärkeren Entwicklung des Schimmels bedeutend gröfser; endlich wird die Azidität des Mehls, das der Einwirkung des Schimmels ausgesetzt war, gröfser.

Auch die Arbeiten von König, Spieckermann und Bremer[1]) sind der Frage über die Wirkung der Schimmelpilze auf vegetabilische Nahrungsmittel gewidmet; im Gegensatz zu den vorangegangenen Forschern auf diesem Gebiete haben diese Autoren ihre Untersuchungen an fettreichen Stoffen angestellt (Baumwollensaatmehl). Durch ihre Versuche haben die Verfasser vor allem den verschiedenen Grad der Feuchtigkeit des Mehls festgestellt, der zur Entwicklung dieser oder jener Art von Schimmel (Oidium, Penicillium) und der in diesem Mehl vorkommenden Bakterien sich am besten eignet. Bezüglich der Veränderungen in der Zusammensetzung des Mehls beim Schimmeln sind die Verfasser zu folgenden Ergebnissen gelangt:

Das Auswachsen der Pilze ist stets mit einem Verluste an organischen Substanzen und mit der Verminderung an Wasser im Mehl verbunden. Unter günstigen Umständen, d. h. bei genügender Feuchtigkeit zur Entwicklung des Penicillium glaucum beobachtet man einen bedeutenden Verlust an Fett und Kohle-

1) König, Spieckermann und Bremer, Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. 1. Die fettverzehrenden Kleinwesen. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genufsmittel, 1901, Bd. 4, S. 721, 769. — Spieckermann und Bremer, Untersuchungen über die Veränderungen von Futter- und Nahrungsmitteln durch Mikroorganismen. 1. Untersuchungen über die Veränderungen fettreicher Futtermittel beim Schimmeln. Landwirtsch. Jahrbücher, Bd. XXXI, H. 1, 1902. — Bremer, Die fettverzehrenden Organismen in Nahrungs- und Futtermitteln. Inaug.-Dissert., Münster, 1902.

hydraten (Raffinose etc.); die Pentosane werdeu nur in geringem Mafse zerstört; die Eiweifsstoffe gehen hierbei nur in geringer Quantität in die orgauischen in Wasser löslichen Verbindungen des Stickstoffs über, wobei jedoch keine Bildung vou NH_3 bemerkt wird. Mit dem Fettverlust geht Hand in Hand eine Fettspaltung, doch erstreckt sich diese nie auf die ganze Masse des im Mehl vorhandenen Fettes; dieser Prozefs vollzieht sich mit verschiedeuer Intensität und wird bedingt von den im Mehl sich entwickelnden niedereu Mikroorganismen; der gröfste Teil des Fettes wird offenbar direkt zu Kohlensäure und Wasser verbrannt.

Nach deu Beobachtungen von Spieckermann und Bremer ist die Feuchtigkeit von weseutlicher Bedeutuug bei der Entwicklung dieser oder jener Arten von niederen Mikroorganismen im Mehl, die die Zersetzung des Mehls bedingen. So beobachtet man bei eiuem geringeu Grad von Feuchtigkeit (21%) das Anwachsen vornehmlich der Monilia-Arten, dabei wird das Fett ausnahmsweise stark verbraucht; bei einer bedeutenderen Feuchtigkeit (24—30%) bemerkt man die Entwicklung von Penicillium glaucum, welche die vollständige Zersetzung der Kohlehydrate, einen grofseu Fettverbrauch, eine unbedeuteude Zersetzung der Pentosane und eine kleine Bildung im Wasser löslicher organischer Verbindungen von Stickstoff aus Eiweifs zur Folge hat; eine noch höhere Feuchtigkeit (30—50%) eudlich ruft hauptsächlich die Entwicklung von Bakterien hervor, die eine allmähliche Zersetzung des Proteins verursacht und unter Bildung vou Ammoniak, eine vollständige Zerstörung der Kohlehydrate, eiue stärkere Zersetzung der Pentosane und immer geringer werdende Fettverzehrung bewirkt.

Ein bedeutender Fettverbrauch bei der Entwicklung von Schimmel in den vegetabilischen Produkten ist auch zu ersehen aus den folgenden kurzen Mitteilungen von Reitmair, Ritthausen und Baumann.[1])

Reitmair hat bei der Untersuchung einer Probe von Erdnufskuchen, die zwei Jahre lang der Wirkung des Schimmels

1) König, Spieckermann und Bremer, Op. cit., Centralbl. f. Bakteriol., II, Abt. II, 1896, S. 711.

ausgesetzt war, gefunden, dafs der Fettgehalt in dem analysierten Stoffe von 11,9% bis auf 0,56% gesunken war.

Ritthausen und Baumann analysierten zwei Proben eines anderen Rübsenkuchens, die nach zweijähriger Aufbewahrung in einem geschlossenen Glase ganz von Schimmel durchwachsen waren und eine bedeutende Vermehrung des Wassergehaltes (2mal) und eine Verringerung des Fettes (4—5mal) aufwiesen; der Stickstoffgehalt aber blieb in beiden Fällen ohne merkliche Veränderung.

Alle oben angeführten Untersuchungen von Welte, Hebebrand, Scherpe, König, Spieckermann, Bremer, Reitmair, Ritthausen und Baumann wurden ausschliefslich an vegetabilischen Lebensmittelprodukten ausgeführt, wenn auch diese Produkte nach ihrer Quantitätszusammensetzung verschieden waren. Sie ergaben übereinstimmend, dafs die stickstofffreien Bestandteile der Nahrungsmittel besonders stark verändert werden, und dafs die Zerlegung des Eiweifses erst in zweiter Linie steht.

Über die Zerlegung animalischer Nahrungsmittel durch Schimmel ist nur sehr wenig Literatur vorhanden, man würde denn die mit Gemischen von Spalt- und Schimmelpilzen ausgeführten Studien von Hanůs und Stocký[1]) über Butterzersetzung hierher rechnen. Ich habe es deshalb gerne übernommen, nach dem Vorschlag von Herrn Prof. Dr. K. B. Lehmann einmal die Zerstörung von Fleisch durch Reinkulturen zweier Schimmelpilze des Penicillium glaucum und des Aspergillus niger zu untersuchen.

Das mir vorgeschlagene Thema ist, nach der Meinung des Herrn Prof. K. B. Lehmann, nicht nur von theoretischer Bedeutung, indem es die Wirkung des Schimmels auf die an Eiweifs reichen Stoffe ermittelt, sondern es entbehrt auch nicht einer wichtigen praktischen Bedeutung, insofern es dazu beiträgt, die Rolle klarzulegen, die Schimmelpilze in dem Zerstörungsprozefs

1) Hanůs und Stocký, Über die chemische Einwirkung der Schimmelpilze auf die Butter. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrngs- u. Genufsmittel, Bd. III, 1900, S. 606.

der in der Erde begrabenen menschlichen Leichen spielen. Nach der Behauptung von Nägeli sollen Schimmelpilze bei der Zerstörung der im trockenen Boden befindlichen Leichen die Hauptrolle spielen.

Leicht kann man sich beim Ausgraben von menschlichen und tierischen Leichen von der massenhaften Anwesenheit von Schimmelpilzen überzeugen.

2. Untersuchungsmethoden.

Die erste Frage, die ich zu Beginn der Untersuchung unbedingt erledigen mufste, wenn ich die ins Auge gefafste Aufgabe überhaupt lösen wollte, bezog sich auf das Mittel, sterilisiertes Fleisch zu erhalten. Beim Suchen nach einem solchen Mittel wurde ich anfangs von dem folgenden Grundgedanken geleitet: es war wünschenswert, dafs das Fleisch nach der Sterilisation möglichst seine normale Zusammensetzung beibehielte, damit es frischem Fleische möglichst entspräche. Meine ersten Versuche, sterilisiertes Fleisch von der Leiche einer eben erschlagenen Katze vermittels sehr vorsichtigen Ausschneidens von Muskelteilen aus den hinteren Extremitäten mit sterilen Instrumenten zu erhalten, erwiesen sich erfolglos. Von neun Proben (von drei Leichen) ist mir keine einzige steril geblieben: Anzeichen von Fäulnis wurden schon am zweiten Tage nach dem Abschneiden bemerkt. Auch die Methode der Pasteurisation des Fleisches, nach welcher dasselbe täglich eine Stunde bis 60° erwärmt wurde, brachte keine positiven Resultate: das Fleisch wurde (vier verschiedene Versuche) infolge der Entwicklung von Mikroorganismen schon nach drei Tagen nach Beginn der Sterilisation faul. Nach diesen erfolglosen Versuchen habe ich es unternommen, sterilisiertes Fleisch auf folgendem Wege zu erlangen. Die von der Leiche einer Katze ausgeschnittenen Muskelteile wurden für einige Sekunden in kochendes Wasser getaucht und dann in die sterilisierten Kölbchen übertragen. Dabei wurde ich von dem Gedanken geleitet, dafs die auf der Oberfläche des Fleisches befindlichen Mikroorganismen von dem kochenden Wasser abgespült und getötet werden müssen; das Fleisch mufste

auf diese Weise sterilisiert sein. Von neun Fleischproben (von drei Leichen), die nach dieser Methode sterilisiert wurden, siud sechs Proben steril geblieben; die übrigen drei Proben wiesen schon nach zwei Tagen Fäulnis auf. Schimmelpilze (Penicillium glaucum), die auf nach dieser Methode sterilisiertem Fleisch ausgesät wurden, entwickelteu sich ziemlich stark in verhältnismäfsig kurzer Zeit. Auf diese Weise konnte man offenbar sterilisiertes Fleisch erhalten, das seiner Zusammensetzung nach dem frischen Fleische ziemlich vollständig entspricht. Allein erstens wurde bei diesen Vorversuchen mit der Fleischsterilisation nur ein verhältnismäfsig geriuges Quantum Fleisch geuommen, nur einige Stückchen, die 10—50 g wogen; man kanu daher nicht mit Unrecht voraussetzen, dafs bei gröfseren Fleischquautitäten (z. B. ungefähr 100 g) schlechte Resultate bei der Sterilisation prozentual häufiger vorkommen würden. Zweitens mufste man erwarten, bei Proben mit gekauftem Rindfleisch, mit welchem alle Versuche in bezug auf die Wirkung der Schimmelpilze vorzunehmen waren, noch gröfseren Schwierigkeiten zu begegnen, die eine Erzielung erfolgreicher Resultate verhindern würden.

Nach deu Versuchen mit der Fleischsterilisation unter Zuhilfenahme des kochenden Wassers ging ich daun zu der bekannten Sterilisationsmethode mit Äther (nach Wollny) über. Diese Methode schien theoretisch für meine Ziele besonders geeignet zu sein, da bei der Sterilisation mit Äther die Zusammensetzung des sterilisierten Stoffes keinen wesentlichen Veränderungen ausgesetzt ist. In die sterilisierten Destillierkolben wurden je 50 g frisches Katzenfleisch hineingelegt, dann je 150 g cc. Äther hineingegossen, die Kolben wurden darauf mit sterilisierten (durch Kochen in Wasser) Korkpfropfen verkorkt, und in diesem Zustande blieb das Fleisch 15 Tage.

Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Äther aus dem Kolben abdestilliert und der Rest durch vorsichtiges Erhitzen bis 50° beseitigt. Von fünf mit Äther sterilisierten Fleischproben waren zwei steril, in drei Fällen konnte man schon nach drei Tagen die Entwicklung von Mikroorganismen (Bacterium vulgare = Proteus vulgaris) beobachten.

—

Nachdem meine Versuche einer schonenden Sterilisation keine ganz sicheren Resultate ergeben hatten, mufste ich schliefslich doch zum Kochen, als zum zuverlässigsten Mittel, welches vollständige Sterilität des Materials verbürgt, meine Zuflucht nehmen und folgendermafsen arbeiten. In sterilisierte Erlenmeyerkolben mit einer Geräumigkeit von 500 ccm wurden Stücke geglühten Bimssteins hineingelegt, die in dem Glase eine Schicht von ungefähr 3 cm Dicke einnahmen; darauf wurden in den Erlenmeyerkolben je 100 g sehr fein (auf einer Fleischmaschine) gehackten frischen Rindfleisches getan; das Glas wurde dann mit einem Wattepfropfen zugekorkt und das Fleisch im Dampftopf zwei Tage sterilisiert — am ersten Tage 1 Stunde und am zweiten Tage $1/2$ Stunde. Nach der Sterilisation wurden die Destilliergläser mit Guttaperchapfropfen, durch die zwei Glasröhren hindurchgingen, zugekorkt; eine dieser Röhren reichte ungefähr bis zur Mitte des Glases, das zweite Rohr aber hörte zugleich mit dem Pfropfen auf; die äufseren Enden beider Röhren bildeten einen rechten Winkel; sie wurden mit Wattepfropfen zugepfropft. Die Guttaperchapfropfen wurden vorher in Sublimat gewaschen und die Röhren wurden durch Erhitzen am Feuer sterilisiert. Um mich von der Sterilität des Fleisches zu überzeugen, stellte ich die mit Guttaperchapfropfen versehenen, mit Fleisch gefüllten Destilliergläser zunächst zwei Tage lang in den Thermostat bei 37°. Einige Proben solches sterilisierten Fleisches wurden unbeimpft nach den unten genannten Methoden einer chemischen Analyse unterzogen. Die Schimmelkulturen — Penicillium glaucum und Aspergillus niger zum Infizieren des Fleisches — wurden auf Kartoffeln in Petrischen Schalen aufgezogen.

Die Destillierkolben mit dem mit Schimmel infiziertem Fleische wurden in einem Kellerraum bei einer Temperatur von 15 bis 17 °C aufbewahrt. Dank der Bimssteinschicht auf dem Boden des Glases war jedes Fleischstückchen von allen Seiten der Schimmeleinwirkung ziemlich gleichmäfsig ausgesetzt. In dem Mafse wie der Schimmel wuchs, wurde von Anfang an eine Bestimmung des Quantums der ausgeschiedenen CO_2 und NH_3 vorgenommen. Zu diesem Zwecke wurde ein Apparat konstruiert, wie

er in solchen Fällen im Laboratorium des Prof. Lehmann[1]) oft verwendet wird. Der Apparat wird aus folgenden Hauptbestandteilen zusammengesetzt. Die lange Röhre im Pfropfen des Destillierglases war zunächst mit einer Waschflasche verbunden, die $^1/_{10}$ norm. H_2SO_4 zur Bestimmung des Ammoniaks enthielt; das letztere Glas war mit zwei aufeinanderfolgenden Pettenkoferschen Röhren verbunden, welche eine titrierte Lösung von $Ba(HO)_2$ enthielten; hier wurde die aus dem Fleischkolben ausgeschiedene CO_2 absorbiert; das zweite Pettenkofersche Rohr war mit dem Wasserstrahlapparat verbunden, welches die von CO_2 und NH_3 befreite befeuchtete Luft durch das System saugte. Die Durchsaugung der Luft durch den Apparat zur Bestimmung des Quantums CO_2 und NH_3 dauerte 6—8 Stunden und nur höchst selten in einem kleineren Zeitraum 4 Stunden. Vor jedem Versuch wurde, zum Zwecke der Entfernung der während der vorhergegangenen Stunden im Glase angesammelten CO_2 und NH_3 eine kräftige Durchspülung des Apparates mit von CO_2 und NH_3 befreiter Luft 30—40 Minuten lang vorgenommen. Nach dem gefundenen Quantum CO_2 und NH_3 wurde das in 24 Stunden vom Schimmel produzierte Quantum dieser Stoffe berechnet.

Nach verschiedenen gröfseren oder kleineren Zeiträumen wurde das Fleisch aus einigen Gläsern herausgenommen, gemischt und dann in ihm dieselben Bestandteile bestimmt, die früher in dem gekochten Fleisch vor der Infektion mit Schimmel bestimmt wurden. Vor der Ausführung einer solchen Analyse fertigte ich gewöhnlich ein mikroskopisches Präparat an und legte verschiedene Kulturen an, um mich vom Fehlen anderer Mikroorganismen aufser Schimmel zu überzeugen. In dem Fleisch wurden vor und nach dem Einwirken des Schimmels aufser CO_2 und NH_3 noch folgende Bestandteile und Eigenschaften bestimmt: Wasser, Trockensubstanz, Extraktivstoffe, flüchtige Säure, Alkalinität, Amidosäure, Säureamide; in der Trockensubstanz wurde die gesamte Menge des Stickstoffes, wie auch die Menge des im Wasser löslichen und unlöslichen Stickstoffes

1) Kraft, Beiträge zur Biologie des Bacterium prodigiosum und zum chem. Verhalten seines Pigmentes. Inaug.-Dissert., Würzburg, 1902, S. 22—24.

und endlich die Menge des ätherischen Auszuges bestimmt. Alle Analysen dieser Art wurden nach den von König[1]) und Lehmann[2]) beschriebenen Methoden ausgeführt.

3. Die Zusammensetzung des Fleisches unter Einwirkung von Penicillium glaucum und Aspergillus niger.

Das Quantum von CO_2 und NH_3, das täglich von den Fleischkulturen des Penicillium glaucum und Aspergillus niger ausgeschieden wird, ist aus den folgenden Tabellen und Kurven zu ersehen. Es waren je 100 g frisches Fleisch im Kolben gekocht worden.

Tabelle V.

Penicillium glaucum. CO_2- und NH_3-Produktion.

Versuch 1					Versuch 2				
Zeit nach d. Impfung des Fleisches Tage	CO_2 mg		NH_3 mg		Zeit nach d. Impfung des Fleisches Tage	CO_2 mg		NH_3 mg	
	pro 1 Std.	pro 24 Std.	pro 1 Std.	pro 24 Std.		pro 1 Std.	pro 24 Std.	pro 1 Std.	pro 24 Std.
3	14,6	349,4	0	—	4	20,8	449,2	0	—
6	26,4	633,6	0	—	7	31,5	756,7	0	—
8	34,1	818,4	0	—	11	37,9	910,8	0	—
12	39,2	940,8	0,15	3,6	13	35,8	858,0	—	—
14	34,5	828,0	0,2	4,8	17	34,1	818,4	—	—
18	34,0	816,0	0,21	5,0	20	27,5	660,0	0,2	5,0
22	27,0	648,0	0,25	6,0	25	28,1	673,7	0,4	9,6
28	31,7	760,0	0,4	9,6	32	25,0	600,9	0,4	9,6
33	23,2	556,8	0,54	12,9					
35	19,8	475,2	—	—					
38	11,6	278,4	0,4	9,6					
39	5,7	137,3	0,4	9,6					
41	4,4	105,6	0,44	10,6					
45	5,0	120,0	0,8	19,2					
109	3,7	90,0	0,4	9,6					
111	2,0	48,0	0,3	7,0					
113	2,0	48,0	0,5	12,0					
117	1,7	40,0	0,34	8,0					
121	1,5	36,0	0,3	7,0					
122	1,5	36,0	0,34	8,0					
126	0,8	20,0	0,34	8,0					
127	0,8	20,0	0,3	7,0					

1) König, Chemie d. menschl. Nahrungs- u. Genufsmittel, 3. Aufl., 1889.
2) K. B. Lehmann, Die Methoden der prakt. Hygiene, 2. Aufl., 1901.

Tabelle VI.

Penicillium glaucum. CO_2- und NH_3-Produktion.

Versuch 3					Versuch 4				
Zeit nach d. Impfung des Fleisches Tage	CO_2 mg		NH_3 mg		Zeit nach d. Impfung des Fleisches Tage	CO_2 mg		NH_3 mg	
	pro 1 Std.	pro 24 Std.	pro 1 Std.	pro 24 Std.		pro 1 Std.	pro 24 Std.	pro 1 Std.	pro 24 Std.
67	18,3	340,0	0,2	5,0	68	13,3	320,2	0,25	6,0
70	10,8	260,0	0,3	7,0	75	8,0	189,4	0,5	12,0
73	8,0	190,2	0,34	8,0	78	6,0	140,0	0,51	12,2
77	4,6	110,4	0,44	11,0	82	4,6	110,0	0,3	7,0
79	4,1	100,2	0,26	6,2	109	—	—	0,25	6,0
84	4,1	99,8	—	—	128	3,3	80,2	0,31	7,2
94	3,7	90,4	0,31	7,2	138	3,3	80,2	0,25	6,0
100	4,6	110,2	0,35	8,2	142	2,9	70,4	0,42	10,0
114	3,7	90,8	—	—	143	2,0	50,2	—	—
125	3,3	80,0	0,34	8,0					
132	3,0	69,8	0,38	9,2					
141	2,5	60,3	0,34	8,0					
145	2,0	50,2	—	—					

(Siehe Tabelle V u. VI auf S. 12 u. 13.)

Wie aus den angeführten Daten zu ersehen, besteht ein ziemlich wesentlicher Unterschied zwischen der Menge von CO_2 und NH_3, welche von Penicillium glaucum und Aspergillus niger ausgeschieden wird. Bei der Entwicklung von Penicillium glaucum kann man schon in den ersten 24 Stunden der Schimmelentwicklung eine merkliche Ausscheidung von CO_2 beobachten, und nach 10—12 Tagen erreicht die Menge des ausgeschiedenen CO_2 ihren Höhepunkt (900—940 mg pro 24 Stunden); dann beginnt sie allmählich zu sinken aber erst nach 40 Tagen sinkt die Menge CO_2 auf 100 mg pro 24 Stunden; in den darauf folgenden Tagen — im Laufe der nächsten $2\frac{1}{2}$ Monate — steht diese Menge gewöhnlich niedriger als 100 mg täglich.

Bei Versuchen 3 und 4 (Tabelle VI und VIII) begann ich die Bestimmungen des CO_2 erst nach 2 Monaten nach der Impfung des Fleisches mit Schimmel und nicht gleich nach der Impfung, wie es bei Versuchen 1 und 2 (Tabelle V und VII) der Fall war.

Tabelle VII.

Aspergillus niger. CO_2- und NH_3-Produktion.

Versuch 1					Versuch 2				
Zeit nach d. Impfung des Fleisches Tage	CO_2 mg		NH_3 mg		Zeit nach d. Impfung des Fleisches Tage	CO_2 mg		NH_3 mg	
	pro 1 Std.	pro 24 Std.	pro 1 Std.	pro 24 Std.		pro 1 Std.	pro 24 Std.	pro 1 Std.	pro 24 Std.
3	4,9	117,2	0	—	4	6,8	163,2	0	—
6	10,6	253,4	0	—	7	13,2	316,8	0	—
8	13,6	326,9	0	—	11	14,7	359,0	0	—
12	15,4	369,6	0	—	13	16,3	392,2	0	—
14	19,4	464,3	0	—	17	17,7	424,8	0	—
18	15,8	380,2	0	—	20	16,5	401,0	0	—
22	15,6	374,9	0	—	25	20,4	488,4	0	—
28	19,3	462,0	0,17	4,1	32	20,0	480,0	0,15	3,6
33	17,7	425,0	0,17	4,1	35	15,7	376,3	0,17	4,1
38	14,5	348,0	0,2	4,8	40	14,1	337,9	0,14	3,4
42	12,3	295,7	0,3	7,2					
110	8,4	200,4	0,22	5,2					
112	10,0	240,2	0,1	2,0					
114	7,1	170,0	0,1	2,0					
116	6,0	140,1	0,03	0,8					
119	6,7	160,4	0,1	2,0					
121	6,0	139,8	—	—					
123	5,4	129,8	0,05	1,0					
125	4,1	100,2	0,05	1,0					
127	4,1	100,2	0,02	0,4					
130	4,6	110,4	—	—					
133	3,7	90,2	0,01	0,2					
137	4,6	110,4	0,01	0,2					

Auffallend ist der merkliche Unterschied in der Menge des ausgeschiedenen CO_2 in Versuch 1 und 2 und 3 und 4; bei den Penicilliumversuchen 1 und 2 ist die Menge des ausgeschiedenen CO_2 nach 40 Tagen schon auf 100 mg pro 24 Stunden gesunken, während bei Versuchen 3 und 4 die Menge des CO_2 nach 67 bis 68 Tagen noch über 300 mg beträgt. Ganz ähnlich liegt die Sache bei Aspergillus niger. Man könnte zur Erklärung annehmen, dafs die gasartigen Produkte der Fleischzerlegung, die sich in den nie ventilierten Kolben 3 und 4 (Tabelle VI und VIII) ansammeln, hemmend wirken auf den weiteren Gang des Zerlegungsprozesses.

Tabelle VIII.

Aspergillus niger. CO_2- und NH_2-Produktion.

Versuch 3					Versuch 4				
Zeit nach d Impfung des Fleisches Tage	CO_2 mg		NH_3 mg		Zeit nach d Impfung des Fleisches Tage	CO_2 mg		NH_3 mg	
	pro 1 Std.	pro 24 Std.	pro 1 Std.	pro 24 Std.		pro 1 Std.	pro 24 Std.	pro 1 Std.	pro 24 Std.
67	12,1	290,2	—	—	69	12,5	300,2	0,13	3,0
71	9,2	220,0	0,13	3,0	74	5,0	120,0	0,1	2,0
76	6,7	160,4	0,2	4,0	78	6,3	150,4	0,13	3,0
81	6,1	140,2	—	—	83	6,1	140,4	0,13	3,0
86	5,4	130,0	—	—	89	4,6	110,2	0,14	3,2
92	5,4	130,0	—	—	95	4,6	110,2	0,13	3,0
98	4,1	100,2	—	—	120	4,6	110,2	0,14	3,2
121	3,2	80,0	0,13	3,0	122	2,9	70,4	0,17	4.1
125	2,8	70,0	0,17	4,2	126	2,9	70,1	0,14	3,2
128	3,3	79,8	0,1	2,1	134	2,1	50,2	0,1	2,1
130	3,3	79,8	0,1	2,1	140	1,7	40,1	0,1	2,1
136	2,0	48,0	—	—					
142	1,7	40,0	—	—					

(Graphische Darstellung von Tab. V—VIII siehe in Tafel I und II.)

Was die Ausscheidung von NH_3 bei der Entwicklung des Penicillium glaucum auf Fleisch anbetrifft, so ist seine Menge ziemlich unbedeutend; sie beträgt gewöhnlich 6—10 mg täglich und erreicht nur selten eine gröſsere Höhe; eine merkliche Ausscheidung von Ammoniak in den ersten 10—11 Tagen der Schimmelentwicklung findet überhaupt nicht statt.

Bei der Untersuchung der Lebensfähigkeit des Penicillium glaucum nach 114 Tagen hat sich erwiesen, daſs die Schimmelpilze zu dieser Zeit abgestorben waren. Da aber die Ausscheidung aus dem Fleische von CO_2 und NH_3 auch nach dem Umkommen der Schimmelpilze beobachtet wurde, so könnte man vermuten, daſs das Penicillium glaucum während seines Wachsens Fermente ausscheidet, welche die Eigenschaft besitzen, die Bestandteile des Fleisches zu spalten und dabei CO_2 und NH_3 auszuscheiden.

Doch muſs ich allerdings zugeben, daſs die Möglichkeit besteht, daſs zwar meine Abimpfungen von Sporen steril blieben,

dafs aber doch noch lebendes Material vorhanden war. Hierauf werde ich bei späteren Untersuchungen besonders achten.

Die Einwirkung des Aspergillus niger in bezug auf die Bildung von CO_2 und NH_3 ist nicht so energisch wie die Wirkung des Penic. glaucum. Die maximale Ausscheidung von CO_2 ist hier erst nach 25—30 Tagen — 500 mg täglich — zu beobachten; später beginnt diese Menge allmählich zu sinken und kommt nach weiteren 125 Tagen auf 100 mg herab (Tabellen III und VIII).

Auf diese Weise besteht in der Art der Ausscheidung von CO_2 zwischen Aspergillus niger und Penicillium glaucum ein ziemlich merklicher Unterschied. Derselbe Unterschied besteht auch zwischen diesen Schimmelarten in dem Charakter der Ammoniakausscheidung. Ungefähr in den ersten vier Wochen der Einwirkung des Aspergillus niger ist keine merkliche Ausscheidung von NH_3 zu verzeichnen; sie erscheint erst nach 26—28 Tagen, wobei diese Zeit mit der Periode der gröfsten Ausscheidung von CO_2 zusammenfällt. Die bei der Entwicklung des Aspergillus niger ausgeschiedene Menge von Ammoniak ist verhältnismäfsig nicht grofs, sie macht nur ungefähr 4 mg täglich aus und bleibt mit der Zeit bei weiteren Beobachtungen noch hinter dieser Ziffer zurück. Der Aspergillus niger scheint, ebenso wie Penicillium glaucum, die Fähigkeit zu besitzen, ein Ferment auszuscheiden, welches nach dem Tode der Schimmelpilze (nach 140 Tagen versuchte ich vergeblich eine Abimpfung) fortfährt, die Bestandteile des Fleisches unter Ausscheidung von CO_2 und NH_3 zu zerlegen, doch ist hier die gleiche Täuschung wie bei Penicillium glaucum möglich (vgl. S. 13).

Aus den folgenden Tabellen ist zu ersehen, welche chemischen Veränderungen das unter der Einwirkung des Pencillium glaucum und Aspergillus niger zersetzte Fleisch erleidet.

(Siehe Tabelle IX u. X auf S. 15 u. 16.)

Nach den in den Tabellen angeführten Daten zu urteilen, erfährt die Zusammensetzung des unter der Einwirkung der untersuchten Schimmelarten befindlichen Fleisches ziemlich

Tabelle IX.

Penicillium glaucum. Die chemischen Veränderungen des Fleisches.

	Wasser %	Trokkensubstanz %	In der Trockensubstanz %				Wasserlösliche Anteile %	Flücht. Säuren (die Menge $^1/_1$ norm. NaHO auf 100 g Fleisch)	Reaktion (die Menge $^1/_1$ norm. H_2SO_4 auf 100 g Fleisch)	Ammoniakstickstoff %	Amidosäureamidstickstoff %	Amidosäurestickstoff %
			N			Ätherextrakt						
			Gesamte	In Wasser löslich	In Wasser unlöslich							
I.												
Analyse des frischen gekochten Fleisches: a)	58,67	41,33	12,56	0,20	12,36	19,80	3,14	—	—	—		—
b)	59.43	40,57	12,59	0,28	12,31	19,38	3,11	—	—	—		0,23
c)	59,50	40,50	12,64	0,34	12,30	19,48	3,14	—	—	Spuren		0,28
d)	58,97	41,03	12,60	0,33	12,28	19,23	3,19	—	—	Spuren		0,26
Im Durchschnitt	59,14	40,86	12,60	0,29	12,31	19,47	3,15	—	—	Spuren		0,26
II.												
Analyse des verschimmelten Fleisches:												
A. Nach 34 Tagen: a)	64,19	35,81	12,60	1,33	11,27	15,90	6,13	—	—	0,33	—	—
b)	64,23	35,77	12,56	1,38	11,18	16,00	6,00	1,0	10,7	0,27	—	—
Im Durchschnitt	64,21	35,79	12,58	1,36	11,23	15,95	6,07	1,0	10,7	0,30	—	—
	+ 5,07	− 5,07	− 0,02	+ 1,07	− 1,07	− 3,52	+ 2,92	+ 1,0	+ 10,7	+ 0,30	—	—
B. Nach 73 Tagen: a)	67,04	32,96	12,33	1,78	10,60	12,29	7,34	1,4	12,1	0,34	0,26	1,39
b)	66,81	33,19	12,31	1,95	10,36	12,11	7,30	1,2	12,3	0,39	0,20	1,25
Im Durchschnitt	66,93	33,07	12,32	1,84	10,48	12,20	7,32	1,3	12,2	0,37	0,23	1,32
	+ 7,79	− 7,79	− 0,28	+ 1,55	− 1,83	− 7,27	+ 4,17	+ 1,3	+ 12,2	+ 0,37	+ 0,23	+ 1,06
C. Nach 115 Tagen: a)	66,65	33,35	12,41	2,18	10,23	12,41	7,40	2,0	13,6	0,41	0,25	1,59
b)	66,67	33,33	12,48	2,12	10,36	12,30	7,38	2,1	13,4	0,39	0,20	1,50
Im Durchschnitt	66,66	33,34	12,45	2,15	10,30	12,36	7,39	2,1	13,5	0,40	0,23	1,55
	+ 7,52	− 7,52	− 0,15	+ 1,86	− 2,01	− 7,11	+ 4,24	+ 2,1	+ 13,5	0,40	+ 0,23	+ 1,29

	Wasser %	Trockensubstanz %	In der Trockensubstanz % N Gesamte	N In Wasser löslich	N In Wasser unlöslich	Ätherextrakt	Wasserlösliche Anteile %	[illegible] Säuren (die Menge $^1/_1$ norm. NaHO auf 100g Fleisch)	Reaktion (die Menge $^1/_1$ norm. H_2SO_4 auf 100g Fleisch)	Ammoniakstickstoff %	Amidosäureamidstickstoff %	Amidosäurestickstoff %
I. Analyse des frischen gekochten Fleisches.												
Im Durchschnitt S. Tab. IX.	59,14	40,86	12,60	0,29	12,31	19,47	3,15	—	—	Spuren	0,26	
II. Analyse des verschimmelten Fleisches.												
A. Nach 40 Tagen: a)	63,12	36,88	12,55	0,50	12,05	13,66	4,01	0,86	6,12	0,10	—	0,44
b)	63,50	36,50	12,88	0,50	12,38	13,59	4,13	0,83	6,08	0,08	—	0,48
Im Durchschnitt	63,31	36,69	12,72	0,50	12,22	13,63	4,07	0,85	6,10	0,10	—	0,46
	+ 4,17	— 4,17	+ 0,12	+ 0,21	— 0,09	— 5,84	+ 0,92	+ 0,85	+ 6,10	+ 0,10	—	+ 0,20
B. Nach 67 Tagen: a)	65,21	34,79	12,60	0,83	11,77	12,47	4,19	0,92	7,10	0,17	—	0,51
b)	65,10	34,90	12,50	0,83	11,67	12,54	4,25	0,86	7,20	0,13	—	0,58
Im Durchschnitt	65,16	34,84	12,55	0,83	11,72	12,51	4,22	0,89	7,20	0,15	—	0,55
	+ 6,02	— 6,02	— 0,05	+ 0,54	— 0,59	— 6,96	+ 1,07	+ 0,89	+ 7,20	+ 0,15	—	+ 0,29
C. Nach 140 Tagen: a)	67,75	32,25	12,21	1,67	10,54	12,26	5,60	0,90	8,00	0,52	0,13	0,88
b)	67,83	32,17	12,28	1,52	10,76	12,40	5,64	0,90	8,20	0,48	0,15	0,94
Im Durchschnitt	67,79	32,21	12,25	1,60	10,65	12,33	5,62	0,90	8,10	0,50	0,14	0,91
	+ 8,65	— 8,65	— 0,35	+ 1,31	— 1,66	— 7,14	+ 2,47	+ 0,90	+ 8,10	+ 0,50	+ 0,14	+ 0,65
D. Nach 152 Tagen: a)	67,07	32,93	12,18	1,76	10,42	12,78	5,62	0,90	8,10	0,56	0,17	0,96
b)	67,15	32,85	12,42	1,58	10,84	12,69	5,67	0,90	8,40	—	—	—
Im Durchschnitt	67,11	32,89	12,30	1,67	10,63	12,74	5,65	0,90	8,30	0,56	0,17	0,96
	+ 7,97	— 7,97	— 0,30	+ 1,38	— 1,68	— 6,73	+ 2,50	+ 0,90	+ 8,30	+ 0,56	+ 0,17	+ 0,70

wesentliche Veränderungen. So wird bei der Schimmelentwicklung vor allem eine Verminderung der Trockensubstanz des Fleisches[1]) beobachtet. Diese Verminderung beträgt für Penicillium glaucum nach 1 Monat 5% und nach 3½ Monaten 7,5% des Fleischgewichtes; für Aspergillus niger macht diese Verringerung nach 40 Tagen 4%, nach 5 Monaten 8,5% des Fleischgewichtes aus. Sodann gehen auch in der Zusammensetzung der Trockensubstanzen merkliche Veränderungen vor sich. Allerdings verändert sich der prozentuale Gehalt an Gesamtstickstoff nur wenig, aber das Quantum der im Wasser löslichen Verbindungen des Stickstoffes wird prozentualiter viel gröfser: bei Penicillium glaucum erreichen sie nach 3½ Monaten 1,9% und bei Aspergillus niger nach 5 Monaten 1,3%. Die im Wasser löslichen, Stickstoff enthaltenden Stoffe bestehen hauptsächlich aus Amidosäuren und deren Amid-Verbindungen; bei Penicillium glaucum fanden sich 1,5% nach 115 Tagen und bei Aspergillus niger 0,9% nach 140 Tagen. Die Menge des prozentualen ätherischen Auszuges in der Trockensubstanz des Fleisches wird merklich geringer: bei Penicillium glaucum nach 3½ Monaten um 7% und bei Aspergillus niger nach 5 Monaten um denselben Prozentsatz; in beiden Fällen ist diese Verminderung im Laufe des ersten Monats bedeutender.

Und endlich beobachtet man am Fleische, welches der Einwirkung der Schimmelpilze ausgesetzt war, eine Bildung und allmähliche Vermehrung von flüchtigen Säuren, die bei Penicillium glaucum bedeutender ist als bei Aspergillus niger; ebenso wächst mit der Entwicklung des Schimmels auch die Alkalinität des Fleisches bei Penicillium glaucum in viel gröfserem Grade als unter der Einwirkung von Aspergillus niger.

Es ist verlockend, die Resultate noch zu einer weiteren Rechnung zu benutzen. Ich kenne die Zusammensetzung des Fleisches vor dem Verschimmeln, die in Gasform weggegangenen Stoffe, den zurückgebliebenen Rest — es sollte sich rechnerisch nachweisen lassen, dafs die Zahlen aufeinander stimmen, wenn eine Bilanz gezogen wird.

1) Resp. eine Vermehrung des Wassergehaltes.

Das Fleisch bestand vor der Verschimmelung aus 100 g frischen Fleisches, es wog gekocht 61 g, darin war:

24,6 g Trockensubstanz,
3,1 Stickstoff,
0,07 wasserlöslicher Stickstoff,
3,02 wasserunlöslicher Stickstoff,
4,8 Ätherextrakt.

Dazu kommt noch — wie eine nachträgliche Analyse bewies — in die Bimssteinbrocken übergegangen und bei der Analyse des Fleisches anfänglich nicht beachtet:

1,55 g Ätherextrakt,
1,37 g wasserlösliche Stoffe,
0,006 g Stickstoff.

Abgegeben wurde von diesem Vorrat:

Bei Beimpfung mit Penicillium glaucum

	Kohlensäure	Ammoniak
in 34 Tagen	23,12	0,145
in weiteren 81 Tagen . .	3,99	0,298
zusammen in 115 Tagen	27,1	0,443.

Bei Beimpfung mit Aspergillus niger

	Kohlensäure	Ammoniak
in 40 Tagen	12,840	0,049
in weiteren 100 Tagen .	8,400	0,205
zusammen in 140 Tagen	21,24	0,254.

Nehmen wir an, dafs das Ammoniak aus Eiweifs stammt, und dafs der Kohlenstoff der Kohlensäure, der nicht in dieser Eiweifsmenge enthalten sein kann, von Fett geliefert wird, so finden wir:

Es sind verschwunden in:

115 Tagen durch Penicillium glaucum 2,75 Eiweifs und 8,0 Fett
140 Tagen durch Aspergillus niger 1,60 Eiweifs und 6,58 Fett

Leider fehlt mir zur Weiterführung der Rechnung eine unentbehrliche Zahl — es wurde vergessen, das Gesamtgewicht der verschimmelten Fleischproben zu ermitteln.

Jedenfalls genügen aber meine Zahlen, um zu zeigen, dafs so wie ich es in meiner Rechnung annahm, die Zersetzung nicht verlaufen sein kann. Wohl ist natürlich Eiweifs im Überflufs vorhanden, um die Entstehung des Ammoniaks zu erklären, dagegen sind die Fettmengen nicht vorhanden, die notwendig wären, um die Kohlensäure zu liefern, und zudem ist prozentualiter und wohl auch absolut ein ziemlich erheblicher Fettrest erhalten. Es wird also ein Teil der Kohlensäure aus Kohlehydraten und jedenfalls noch ein weiterer Teil aus Eiweifs stammen. Für die letztere Annahme ist ja sehr günstig das Auftreten erheblicher Mengen von Ammoniak und Amidokörpern in den Zersetzungskolben; offenbar verbrennt durch die Lebensprozesse resp. Fermentwirkung der Schimmelpilze, ähnlich wie im Organismus der Warmblüter Eiweifs zu Wasser, Kohlensäure und stickstoffreicheren Extraktivstoffen resp. Ammoniak, ein Teil der Kohlensäure wird sicher von den Kohlehydraten und Fetten geliefert.

Ich gedenke, diese interessanten Studien und Berechnungen wieder aufzunehmen, sobald ich in neuen Versuchsreihen die absoluten Mengen, die in den verschimmelten Kolben zurückblieben, ermittelt habe. Leider mufste ich Würzburg verlassen, ehe ich die schmerzlich empfundenen Lücken ausfüllen konnte.

4. Allgemeine Ergebnisse.

Indem wir die Resultate der von uns ausgeführten Versuche zusammenfassen, gelangen wir zu folgenden Ergebnissen und Thesen:

1. Die Entwicklung des Penicillium glaucum und Aspergillus niger auf dem Fleische ist mit einem Quantitätsverlust der Trockensubstanz des Fleisches verbunden.
2. Beim Wachsen der einen wie der anderen Schimmelart verringert sich im Fleisch die absolute Quantität des Stickstoffes; der Gehalt der im Wasser löslichen Ver-

bindungen des Stickstoffes vermehrt sich prozentualiter erheblich und wohl auch absolut.

3. Der prozentuale Gehalt an Ätherextrakt in den Trockensubstanzen des Fleisches verringert sich beim Wachsen des Penic. glaucum und des Aspergillus niger; diese Verringerung schreitet während des ersten Monats der Schimmelentwicklung am schnellsten fort.
4. Die Menge der Extraktivstoffe des Fleisches wächst stark an.
5. Die Alkalinität des Fleisches steigt allmählich; sie ist bedeutender beim Wachsen des Penicillium glaucum als bei der Entwicklung des Aspergillus niger.
6. Beim Wachsen des Schimmels auf dem Fleische bildet sich und wächst allmählich die Quantität der flüchtigen Säuren an.
7. Bei der Entwicklung des Penicillium glaucum ist der Inhalt von NH_3 im Fleische gröfser als bei der des Aspergill. niger.
8. Die Menge der Amidoverbindungen des Stickstoffes wird allmählich gröfser; sie ist bei Penic. glauc. gröfser als bei Asperg. niger.
9. CO_2 wird besonders stark im ersten Monat gebildet; die Bildung von NH_3 wird etwas später wahrgenommen als die von CO_2; die Menge des einen wie des anderen Gases ist bei Penic. glauc. etwas gröfser als bei Asperg. niger.
10. Penicillium glaucum und Aspergillus niger verlieren beim Wachsen auf dem Fleische (unter gewissen Umständen) ihre Lebensfähigkeit nicht später als nach 115 Tagen (Penic. glauc.) und nach 150 Tagen (Asp. nig.).
11. Die Schimmelpilze scheinen bei ihrem Wachsen auf dem Fleische Enzyme auszuscheiden, welche das Eiweifs und Fett desselben zerspalten und das Leben der Schimmelpilze überdauern.
12. Das verschwundene Fett des Fleisches reicht nicht aus um die gebildete Kohlensäure zu erklären, es wird auch

aus anderen Bestandteilen (Kohlehydrate, Eiweifs) Kohlensäure gebildet.

13. Penicillium glaucum zerstört die Bestandteile des Fleisches schneller als Aspergillus niger.

Zum Schlufs sehe ich es als angenehme Pflicht an, dem hochverehrten Herrn Prof. K. B. Lehmann meinen aufrichtigen und tiefempfundenen Dank auszusprechen für das mir empfohlene Thema dieser Arbeit, wie auch für die Aufmerksamkeit und Hilfe, die er mir bei der Ausführung derselben gütig entgegengebracht hat.

P. S. Auf den Tafeln mufs die Erklärung über das Verhältnis der CO_2- und NH_3-Darstellung heifsen: CO_2-Mafsstab ist 10 mal kleiner als der Ammoniakmafsstab.

Über die Gröfse der Luftbewegung in der Nähe unserer Wohnungen.

Von

Privatdozent Dr. **Heinrich Wolpert.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Die meteorologischen Stationen liefern bekanntlich Beobachtungsresultate der Windgeschwindigkeiten, die an einem möglichst exponierten Ort, zum mindesten über Dach, wenn nicht auf einem Turm der Station oder gar, wie in neuerer Zeit in manchen Fällen, im Fesselballon gewonnen sind. So wichtig, einwandfrei und notwendig solche Messungen auch sind — unmittelbar und ohne weiteres haben sie für die Zwecke der Hygiene kaum eine Bedeutung. Weit mehr müssen gesundheitlich diejenigen Windgeschwindigkeiten ein Interesse erwecken, von denen man in der Nähe der menschlichen Wohnungen zu ebener Erde, etwa auf der Strafse oder am offenen Fenster, auch etwa auf einem Balkon usw. getroffen wird, und insbesondere jene Luftströmungen, welche, indem sie die Aufsenmauern eines Hauses treffen, in den Dienst der natürlichen Ventilation unserer Wohnungen treten.

Eine offene Frage ist es nun, ob die Geschwindigkeit des Windes in nächster Nähe eines Wohnhauses sich in der Regel einigermafsen mit jener des freien Windes decken mag, oder in welchem Verhältnis sie etwa zu letzterer Gröfse stehen kann. Versuche hierüber, meines Wissens bislang nicht ausgeführt, dürften aber voraussichtlich nicht nur die Erkenntnis des natürlichen Lüftungsvermögens des Hauses fördern helfen, sondern nebenher — wie niedrig die festzustellenden Quotienten auch

ausfallen mögen — für die physiologische Hygiene von einigem Belang sein. Hat doch erst kürzlich Rubner über nachweisliche Wirkungen insensibler, das heifst unter 0,4—0,5 m pro Sekunde liegender Luftströmungen berichtet, welche unter Umständen, nämlich besonders bei niedriger Lufttemperatur, bis auf 0,01—0,02 m pro Sekunde und darunter wirksam befunden wurden.[1])

Mit anemometrischen Messungen im Freien, wie überhaupt mit der Anemologie hat sich die Hygiene freilich noch nicht viel befafst, wenngleich die eigenartigen Wirkungen des Windes auf den Menschen, hauptsächlich durch die Arbeiten unseres Laboratoriums, unter Zuhilfenahme eines künstlichen Windes innerhalb der praktisch wohl bedeutungsvollsten Grenzen von 1 bis 16 m pro Sekunde bereits vor einer Reihe von Jahren studiert worden sind.[2])

Die Frage, die ich experimentell zu beantworten versuchte, und wobei ich zunächst die Zwecke der Ventilation ins Auge fafste, war demgemäfs diese:

Wie grofs ist die Geschwindigkeit des Windes in nächster Nähe der Umfassungsmauern von Wohnhäusern, insbesondere vor den Fenstern und in Höfen, im Verhältnis zu der Geschwindigkeit des Windes über Dach?

Die anzuwendende Methode bestand einfach darin, dafs an den zu vergleichenden Orten gleichzeitig Bestimmungen der Windgeschwindigkeiten mit Hilfe kleiner Robinsonscher Schalenkreuzanemometer ausgeführt wurden. Diese Instrumente, vom Mechaniker Fuess in Steglitz bezogen, waren gleichmäfsig beschaffen und machten vor allem durchaus gleichmäfsige Angaben. Um Zufälligkeiten tunlichst auszuschalten, wählte ich längere Versuchszeiten, in der Regel von etwa 24 Stunden Dauer.

Die Skalenteile bedeuten bei diesen kleinen Schalenkreuzen, deren Schalendurchmesser nur etwa 2 cm beträgt, unmittelbar Meter Windgeschwindigkeit, wenn die Beobachtung eine mittlere Windstärke von etwa 6—8 m in der Sekunde ergibt. Nach Mafs-

1) Rubner, Archiv f. Hygiene, 1904, Bd. 50, S. 296.

2) Wolpert, Hygien. Rundschau, 1897, Nr. 13 und Archiv f. Hygiene, 1898, Bd. 33, S. 206.

gabe der beigegebenen, für unsere 3 Schalenkreuze übrigens völlig identischen Eichungstabellen, hat für geringere Windstärken ein Zuschlag, für gröfsere Windgeschwindigkeiten ein Abzug stattzufinden. Ist der Zeiger um einen Teilstrich vorgerückt, so hat das Schalenkreuz drei Umdrehungen ausgeführt. Weniger als 0,5 m reeller sekundlicher Windgeschwindigkeit sind hiermit nicht mefsbar. Selbstverständlich lassen sich aber im Mittel für eine längere Beobachtungsdauer auch erheblich geringere Geschwindigkeiten als 0,5 m pro Sekunde berechnen.

Die Benutzung der Eichungstabelle hat offenbar nur für kurze Beobachtungszeiten, während deren sich das Schalenkreuz mit ziemlich gleichmäfsiger Stärke drehte und jedenfalls nie stillstand, also im allgemeinen nicht für Beobachtungszeiten über eine Minute hinaus einen Sinn und Gültigkeit. Ich habe es daher stets bei diesen mehrstündigen Beobachtungszeiten unterlassen, die Beobachtungszahlen einer Korrektur zu unterwerfen. Diese Zahlen sind somit Mindestwerte und sogar sicher erheblich zu niedrig aus zwei Gründen: einmal wegen des Unterbleibens der Korrektur, wo es sich meistens um wesentlich geringere Geschwindigkeiten als 6—8 m pro Sekunde gehandelt hat, und dann, weil reelle Geschwindigkeiten bis 0,5 m pro Sekunde und wohl noch etwas darüber hinaus überhaupt nicht zur Messung gelangten. Aber diese Zahlen gestatten doch sehr wohl einen Vergleich untereinander, besonders da auch die von mir gemessenen Werte über Dach mehr oder weniger, jedenfalls in höherem Mafse als die Angaben der meteorologischen Stationen, hinter den wirklichen Geschwindigkeiten des freien Windes zurückbleiben werden. Denn ich konnte das auf einen Holzklotz aufgeschraubte Schalenkreuz in der Regel nur einfach ohne weiteres auf das Dach aufsetzen, wobei ich tunlichst den höchsten und freiest gelegenen Punkt wählte, was mir aber begreiflicherweise, äufserer Umstände halber, nicht immer vollkommen gelang. Der zu niedrige Zahlenwert beider Messungen wirkt jedenfalls in dem Sinne, dafs die Verhältniszahl richtiger wird und um so eher unbedenklich auf die freien Windgeschwindigkeiten, welche die meteorologischen Stationen liefern, anwendbar ist.

Nach diesen Vorbemerkungen kann ich zur Mitteilung der gemachten Beobachtungen übergehen, welche ich möglichst in zeitlicher Folge bringe.

I. Beobachtungen vor dem Fenster.

1. Am 7. Juni 1904, einem nach meiner Empfindung windigen Tage, machte ich einen einstündigen Vorversuch an einem Fenster meiner Wohnung in Charlottenburg. Das betreffende Fenster liegt nach Norden, nach der Strafse zu, und da Nordwestwind herrschte, welcher seitlich auf die Fensterwand drückte, glaubte ich die Bedingungen für gegeben, eine recht hohe Windgeschwindigkeit zu finden. Es ergaben sich gleichwohl nur:

1430 m/St. = **0,4** m/Sek. für das Fenster.

Die Luftbewegung vor dem (geschlossenen) Fenster war also für meine bisherige Anschauung über Erwarten gering.

2. Am gleichen Tage begann ich einen zweiten Versuch im Institut in Berlin C., Klosterstrafse 36/II, an einem Südfenster, der 14 Stunden, das ist bis zum Vormittag des 8. Juni, ausgedehnt wurde. Während der ganzen Zeit bestand weiter Nordwestwind. War die erste Beobachtung richtig, so durfte sich hier noch ein geringerer Wert als im ersten Versuch ergeben, einmal, weil im Zentrum Berlins an sich weniger Luftbewegung als in Charlottenburg zu erwarten ist, zweitens wegen der längeren Versuchsdauer, welche den Mittelwert für Windbeobachtungen fast stets herabzudrücken geeignet sein wird, und drittens besonders auch wegen der Lage des Fensters, indem der Nordwestwind die Südseite nicht unmittelbar angreift, sondern nur mittelbar an ihr saugt.

Der Versuch ergab:

5490 m in 14 St. = 392 m/St. = **0,11** m/Sek.

Die Luftbewegung vor dem Fenster war somit in Berlin noch weit geringer als in Charlottenburg, und es schien sich nach diesem Ausfall der Vorversuche zu lohnen, noch mehrere Schalenkreuze zu beschaffen, damit die Möglichkeit gegeben war, gleichzeitig Beobachtungen vor dem Fenster und über Dach anzustellen.

Bevor ich in eine Besprechung der nach dieser Richtung fortgesetzten Versuche eintrete, möchten hier zwei spätere Versuchsreihen einzufügen sein, bei denen ich gleichfalls nicht in der Lage war, neben den Messungen vor dem Fenster solche über Dach auszuführen.

Es handelt sich um auswärtige Versuche, die bei Gelegenheit vorgenommen wurden.

3. Am 12. August 1904, einem für meine Empfindung sehr windigen Tage, brachte ich ein Schalenkreuz auf dem Geländer des gedeckten Balkons eines Hotelzimmers in Seebad Heringsdorf an. Das Zimmer, in dem ich wohnte, befindet sich in der II. Etage des Hotel Minerva, eines freistehenden zweistöckigen Hauses in der Kaiserstrafse, und liegt nach Süden, also nicht nach dem Strande zu, sondern mit Blick in den Wald, der einige Schritte von dem Hotel entfernt beginnt und, indem er eine Anhöhe bedeckt, wohl imstande ist, südliche und östliche Winde wesentlich zu schwächen. Das Instrument wurde zehn Tage daselbst belassen, und ich erhielt die nachstehenden Resultate, welche, wenn man sie auf die Sekunde rechnen will, für den Durchschnitt der zehn Versuchstage auf das, wie mir scheinen will, in Anbetracht der langen Versuchszeit sehr hohe Mittel von **0,65** m/Sek. führen. Das Maximum mit 6767 m pro Stunde, entsprechend **1,88** m pro Sekunde, erhielt ich gleich am 12. August und das Minimum von 963 m/St. = **0,27** m/Sek. am 18. August.

Versuche in Heringsdorf (Balkon).

a) Am	12.	August	20300 m	in	3 St.	= 6767 m/St.
b) »	13.	»	69400 »	»	16 »	= 4337 »
c) »	14.	»	52300 »	»	24 »	= 2180 »
d) »	15.	»	24550 »	»	24 »	= 1023 »
e) »	16.	»	88850 »	»	24 »	= 3702 »
f) »	17.	»	80800 »	»	24 »	= 3367 »
g) »	18.	»	23100 »	»	24 »	= 963 »
h) »	19.	»	39600 »	»	21 »	= 1886 »
i) »	20.	»	72300 »	»	27 »	= 2678 »
k) »	22.	»	84400 »	»	49 »	= 1722 »
		Summe	555600 m	in	236 St.	= 2354 m/St.

4. In der Zeit zwischen dem 7. und 26. Juli 1904 waren schon vorher Ventilationsversuche in Adlershof bei Grünau, einem östlichen Vororte Berlins, von mir gemacht worden, wobei ich in einer Reihe von Fällen ebenfalls nur die Luftgeschwindigkeiten vor dem Fenster geprüft hatte. Die hierher gehörigen Zahlen sind die folgenden. Es sei bemerkt, dafs in den Versuchen a) bis k) die Fensterseite des untersuchten Zimmers nach Nordost und nur in den Versuchen l) und m) nach Südost ging; der Wind kam in den Versuchen a) bis f) aus Nordwest, in g) bis i) herrschte Ostwind und in k) bis m) Südostwind.

Die Messungsergebnisse sind aus drei- bis fünfstündigen Versuchszeiten auf die Stunde reduziert.

Sämtliche Gebäude weisen zwei Stockwerke auf, a) bis k) liegen frei, l) und m) sind etwas eingebaut, m) ein sogenanntes »Berliner Zimmer«.

Versuche in Adlershof, Abteilung I.

Messungen vor dem Fenster.

a) Am	7. Juli	1904,	2	m/St.	in	Genossenschaftstr.	20/0
b) »	7. »	1904,	5	»	»	»	20/II
c) »	7. »	1904,	59	»	»	»	26/0.
d) Am	8. Juli	1904,	1826	m/St.	in	Genossenschaftstr.	20/I
e) »	8. »	1904,	215	»	»	»	26/I
f) »	8. »	1904,	1221	»	»	Sedanstrafse	22/I.
g) Am	13. Juli	1904,	3635	m/St.	in	Genossenschaftstr.	17/I
h) »	13. »	1904,	1128	»	»	»	20/II
i) »	13. »	1904,	1059	»	»	Sedanstrafse	22/II.
k) Am	14. Juli	1904,	576	m/St.	in	Sedanstrafse	22/0
l) »	14. »	1904,	908	»	»	»	4, Sfl. I
m) »	14. »	1904,	1325	»	»	» (B.Z.)	4, Sfl. II.

Man ersieht aus diesen Zahlen hauptsächlich zweierlei: Einmal, dafs der Wind, welcher auf die Mauern des freistehenden Hauses einwirkt, innerhalb aufserordentlich weiter Grenzen schwanken kann, denn an den obigen vier Versuchstagen lagen die erhaltenen Windgeschwindigkeiten zwischen 2 und 3635 m

pro Stunde. Man erkennt weiter, dafs der Wind nicht entfernt mit gleichmäfsiger Stärke auf sämtliche Gebäude einer Strafsenseite zu wirken braucht. Beispielsweise ging am 8. Juli der Zeiger des Schalenkreuzes vor Genossenschaftstrafse Nr. 20/I um 1826, vor Nr. 26/I aber nur 215 Skalenteile stündlich vorwärts, was in diesem Falle vielleicht dadurch veranlafst war, dafs der Nordwestwind, bei der Nordostlage beider untersuchten Räume, zunächst nach Nr. 20 kommen mufste und auf seinem Weg bis Nr. 26 eine Schwächung durch Reibung und mehr noch durch anderweitige Hemmnisse, wie vorstehende Gebäudeteile, erfahren konnte.

Der verhältnismäfsig hohe Wert für das Berliner Zimmer, nämlich 1325 m stündlich, könnte Befremden erregen. Doch war die Windrichtung, Südost gegen Südostwand, ausnehmend günstig, ferner lag das Zimmer in der obersten Etage an sich dem Wind mehr ausgesetzt, und es dürfte bei der ganzen Situation wohl auch eine Windpressung an dem hohen Wert mitbeteiligt gewesen sein. In einem zweiten Versuch (s. unten, 5. c. III.) erhielt ich, bei ungünstig wirksamem Westwind, nur 40 m Windgeschwindigkeit stündlich.

Bei einer zweiten Versuchsreihe in Adlershof wurden die Windgeschwindigkeiten sowohl vor dem Fenster wie auch über Dach gemessen. Die untersuchten Häuser blieben die gleichen.

2. Vergleich von Fenster und Dach.

Windgeschwindigkeiten vor dem Fenster wurden mit ebensolchen auf dem Dach zunächst in Berlin und dann auch in Adlershof verglichen. Im Anschlufs an die Versuche unter 4. seien zunächst die ferneren Adlershofer Resultate mitgeteilt.

Versuche in Adlershof, Abteilung II.

Messungen vor dem Fenster (F) und über Dach (D).

5. a) Am 20. Juli, bei Nordwind, war D = **5002** m/St. = 1,40 m/Sek. und gleichzeitig:

I. F = 14 m/St. in Genossenschaftstrafse 20/0, woraus F : D = 14 : 5002 m/St. = **0,28** : 100.

II. F = 1160 m/St. im gleichen Hause, 2 Treppen, woraus F : D = 1160 : 5002 m/St. = **23,2** : 100.

b) Am 21. Juli, Wiederholung bei Westwind, war D = **7467** m/St. = 2,07 m/Sek. und gleichzeitig:

I. F = 106 m/St. in Genossenschaftstrafse 20/0, woraus F : D = 106 : 7467 m/St. = **1,42** : 100.

II. F = 1172 m/St. im gleichen Hause, 2 Treppen, woraus F : D = 1172 : 7467 m/St. = **15,7** : 100.

c) Am 22. Juli, wiederum bei Westwind, war D = **5070** m/St. = 1,41 m/Sek. und gleichzeitig:

I. F = 365 m/St. in Sedanstrafse 22/I, woraus F : D = 365 : 5070 m/St. = **7,20** : 100.

II. F = 25 m/St. in Sedanstrafse 4, Sfl. I, woraus F : D = 25 : 5070 m/St. = **0,50** : 100.

III. F = 40 m/St. in Sedanstrafse 4, Sfl. II, Berl.-Z., woraus F : D = 40 : 5070 m/St. = **0,79** : 100.

In runden Zahlen 0,3 bis 23, im Mittel aber **7,0** % der freien Windgeschwindigkeit wurden somit in den vorstehenden Versuchen vor den Fenstern gemessen.

Dies zeigt, dafs unter Umständen doch ein hoher Prozentsatz der freien Windgeschwindigkeit vor dem Fenster wirksam werden kann, wenn es sich nämlich um die oberen Etagen freistehender Häuser handelt. Denn die höchsten Prozentzahlen, 23,2 und 15,7 %, wurden für die II. Etagen bestimmt und die nächsthöhere, 7,20 %, für die I., während die Zahlen für Parterre um 1 % herum liegen, freistehende Gebäude vorausgesetzt; bei geschlossener Bauweise ergab sich für die II. Etage nur 0,8 und für die I. nur 0,5 %.

Dafs am zweiten Versuchstag (b), als die gleichen Fenster wie am ersten untersucht wurden, das Fenster über 2 Treppen ungeachtet einer gröfseren freien Windstärke einen niedrigeren Prozentsatz (15,7 gegen 23,2) aufwies, dürfte seine Erklärung in dem Umstande finden, dafs am zweiten Tage Westwind wehte, der nur mittelbar durch Saugen an der Front des Hauses angreifen konnte, am ersten dagegen Nordwind, welcher unmittel-

bar in einem Winkel von etwa 45° auf die Front drückte. Der Wert für Parterre war am zweiten Tage freilich höher als am ersten, aber immerhin an beiden Tagen sehr niedrig (14 bzw. 106 m stündlich, das ist 0,28 bzw. 1,42 %).

Die Versuche scheinen also auch dafür zu sprechen, dafs die Windgeschwindigkeiten vor den Fenstern der verschiedenen Etagen eines Hauses ganz gewaltig verschieden sein können. Auf diese Frage komme ich unten an der Hand ausgedehnter weiterer Versuche noch zurück.

Wie am zweiten, so herrschte auch am dritten Versuchstage (c) Westwind, und dieser mufste das Fenster der Nordostseite ad I im gleichen Sinne einer mittelbaren Saugwirkung wie die Südostfenster ad II und III beeinflussen. Gleichwohl ergab der erste Versuch einen etwa zehnmal höheren Wert als die beiden anderen — zweifellos eine Folge der geschlossenen Bauweise bei Sedanstrafse Nr. 4, Seitenflügel.

In Berlin wurden an demselben Südfenster wie unter 2., über 2 Treppen, die Windgeschwindigkeiten vor dem Fenster und über Dach in folgenden Fällen verglichen.

Versuche in Berlin.

Messungen vor dem Fenster (F) und über Dach (D).

6. a) Am 8./9. Juni, bei NW.—NO.-Wind, waren:

D = 85 690 m in 22 St. = **3895** m/St. = 1,10 m/Sek.
F = 3265 » » 22 » = 148 » = 0,04 » , woraus
F : D = 3265 : 85 690 m in 22 St. = **3,6** : 100.

Nur 3,6 % des Windes über Dach wurden somit vor dem Fenster wirksam. Der von Norden kommende Wind konnte von vornherein eine grofse Wirkung auf die Südseite des Hauses nicht in Aussicht stellen.

Neben dem senkrecht aufgestellten Instrument wurde in den beiden folgenden Versuchen ein zweites Schalenkreuz horizontal angebracht, auf welchem ein etwa senkrecht oder schräg von oben kommender Wind besser angreifen konnte. Wenigstens

war dies denkbar. Der Versuch ergab jedoch ein anderes Resultat, indem das senkrecht aufgestellte Schalenkreuz einen ungefähr doppelt so grofsen Ausschlag lieferte. Daher wurde weiterhin wie bislang nur von der senkrechten Aufstellung Gebrauch gemacht.

b) Am 16./17. Juni, bei Westwind, waren:
D = 83 130 m in 23 St. = **3614** m/St. = 1,00 m/Sek.
F : D = 1140 : 83 130 = **1,4** : 100 für senkr. Aufstellung.
F : D = 485 : 83 130 = 0,6 : 100 » horizont. »

c) Am 17./18. Juni, ebenfalls bei Westwind:
D = 121 170 m in 24 St. = **5049** m/St. = 1,40 m/Sek.
F : D = 3211 : 121 170 = **2,7** : 100 für senkr. Aufstellung.
F : D = 2030 : 121 170 = 1,7 : 100 » horizont. »

Sehe ich von der horizontalen Aufstellung des Schalenkreuzes ab, so ist der Prozentsatz der Windgeschwindigkeiten, welche vor dem Fenster wirksam wurden, in den drei Versuchen nicht wesentlich verschieden und überhaupt ein sehr niedriger.

Der Einflufs der Windseite erhellt aus den folgenden beiden Versuchen.

Berlin, Vergleich von Südfenster mit Nordfenster, d. i. von Windseite (W) mit windabgewandter Seite (A).

7. Am 18./20. Juni, bei vorherrschend S.—SW.-Wind:
Dach = 233 300 m in 47 St. = **4964** m/St. = 1,38 m/Sek.
W : A : Dach = 15 614 : 5460 : 233 300 = **6,7** : **2,3** : 100.

Bei vorherrschend südlicher Windrichtung wies somit begreiflicherweise die Südwand mehr, und zwar etwa dreimal soviel Wind als die Nordwand auf. Bei entgegengesetzter Windrichtung konnte offenbar ebensogut das Nordfenster die gröfsere Windgeschwindigkeit erkennen lassen.

In hierhergehörigen Adlershofer Versuchen trat die Windseite noch weit mehr, im Verhältnis von 70 : 4 in den Vordergrund.

Adlershof, Turnhalle. Vergleich von Windseite (W) mit windabgewandter Seite (A).

		W : A : Dach war:		
8. a)	Am 14. Juli =	1690 : 110 :	83700 m/16 St. =	2,0 : 0,1 : 100.
b)	» 15. » =	6080 : 430 :	47940 m/ 8 St. =	12,7 : 0,9 : 100.
c)	» 16. » =	4135 : 260 :	39400 m/16 St. =	10,5 : 0,7 : 100.
	Summe =	11905 : 790 :	171040 m/40 St. =	**7,0 : 0,4** : 100.

Im Mittel war absolut D = 171040 m/40 St. = **4276** m/St. = 1,19 m/Sek.

3. Höfe.

Zunächst wurde die Windgeschwindigkeit in der Mitte eines sehr geräumigen, dann auch eines sehr engen Hofes im Verhältnis zu der Windgeschwindigkeit über Dach ermittelt. Diese Messungen wurden in Berlin im alten Institut vorgenommen. Als »grofser Hof« diente der mittlere Museumshof von Klosterstrafse 35, als »kleiner Hof« der hintere, ausnehmend stark eingebaute Hof von Nr. 32. In einer dritten Versuchsreihe wurden ferner beide Höfe gleichzeitig mit der freien Luftgeschwindigkeit und in einer vierten, in Charlottenburg, ein nach einem äufserst engen Hof gehendes Fenster mit den Windgeschwindigkeiten vor einem Vorderfenster und über Dach verglichen.

In den drei ersten Versuchsreihen wurden die Schalenkreuze in einer Höhe von etwa 2 m inmitten der Höfe angebracht, in der ersten nebenher auch die Windgeschwindigkeit vor einem Südfenster der II. Etage des zweistöckigen Gebäudes gemessen.

9. Ein Schalenkreuz befand sich in der Mitte des grofsen Museumshofes, ein zweites vor einem Fenster des Respirationszimmers (Südlage), ein drittes über Dach. Man durfte vielleicht erwarten, dafs das Instrument zu ebener Erde im Hof im allgemeinen eine erheblich niedrigere Windgeschwindigkeit als jenes vor dem Fenster über 2 Treppen anzeigen werde.

a) Am 9./10. Juni bei Ostwind war:

Dach = 144380 m in 22 St. = **6563** m/St. = 1,82 m/Sek.
Fenster = 2400 » » 22 » = 109 »
Gr. Hof = 8450 » » 22 » = 348 »

woraus Gr. Hof : Fenster : Dach = **5,8** : 1,7 : 100.

b) Am 10/11. Juni bei O.—SO.—NO.-Wind:

Dach = 91 300 m in 23 St. = **3970** m/St. = 1,10 m/Sek.
Fenster = 310 » » 23 » = 14 »
Gr. Hof = 3460 » » 23 » = 150 »
woraus Gr. Hof : Fenster : Dach = **4,0** : 0,3 : 100.

Ganz im Gegenteil zeigte sich somit gerade in der Mitte des Hofes zu ebener Erde die Luft mehr bewegt als am Fenster über 2 Treppen. Die Erklärung hierfür dürfte darin zu suchen sein, dafs ein schräg nach abwärts gerichteter Wind offenbar unter Umständen die Mitte eines grofsen Hofes mehr beeinflussen kann als manche Fenster, welche mehr oder weniger im toten Winkel liegen bleiben können. Der Winkel der umliegenden Dächer kann den Wind in solcher Weise ablenken.

Inmitten des Hofes wurden 4 bis 6, im Mittel also 5% des Windes über Dach wirksam.

Inmitten des zweiten, sehr kleinen Hofes wurden dagegen ganz minimale Gröfsen, 0,05 bis 0,70% gefunden, wie die folgende Versuchsreihe beweist, aus der auch hervorgeht, dafs hier die Anzeige des Schalenkreuzes binnen 24 Stunden sich kaum veränderte.

10. Ein Schalenkreuz befand sich in der Mitte des kleinen Museumshofes und ein zweites über Dach.

a) Am 14./15. Juni bei S.—NW.—SO.-Wind war:

Dach = 58 800 m in 19 St. = **3100** m/St. = 0,86 m/Sek.
Kl. Hof = 34 » » 19 » = ca. 2 »
woraus Kl. Hof : Dach = 34 : 58 800 = **0,05** : 100.

b) Am 15./16. Juni bei SO.—W.-Wind:

Dach = 87 670 m in 23 St. = **3812** m/St. = 1,06 m/Sek.
Kl. Hof = 651 » » 23 » = ca. 30 »
woraus Kl. Hof : Dach = 651 : 87 670 = **0,7** : 100.

Im grofsen Hof wurde somit etwa 10- bis 100mal mehr Windintensität als im kleinen nachgewiesen, allerdings an verschiedenen Versuchstagen. Die nachstehende Versuchsreihe führt jedoch mittels eines gleichzeitigen experimentellen Vergleichs der beiden Höfe auf das nämliche Resultat.

11. Je ein Schalenkreuz befand sich inmitten des grofsen und kleinen Museumshofes, ein drittes Instrument über Dach.

a) Am 11/13. Juni, bei NO.—O.—SO.—SW.-Wind, war:
Dach = 143550 m/50 St. = **2871** m/St. = 0,8 m/Sek.
Gr. Hof = 8970 » = 179 »
Kl. Hof = 140 » = 3 »
woraus Kl. Hof : Gr. Hof : Dach = 0,1 : 6,0 : 100.

b) Am 13./14. Juni, bei W.—NW.—S.-Wind:
Dach = 54700 m/30 St. = **1823** m/St. = 0,51 m/Sek.
Gr. Hof = 15610 » = 520 »
Kl. Hof = 110 » = 3,7 »
woraus Kl. Hof : Gr. Hof : Dach = 0,2 : 28,0 : 100.

In einer weiteren Versuchsreihe verglich ich sodann in Charlottenburg, Göthepark 16/I, Hoffenster mit Vorderfenster und Dach. Das Hoffenster geht nach Westen, das Vorderfenster nach Norden.

12. Je ein Schalenkreuz befand sich vor Hoffenster, vor Vorderfenster und über Dach.

a) Am 29./30. Juli, bei NW.-Wind, war:
Dach = 31490 m in 28 Stunden]
Vorderfenster (V) = 570 m in 28 Stunden
Hoffenster (H) = 1 » » 28 »
woraus H : V : Dach = 0,0 : 1,8 : 100.

b) Am 30./31. Juli, bei NW.—SO.-Wind:
Dach = 29000 m in 15 Stunden
V = 2 » » 15 »
H = 0 » » 15 »
woraus H : V : Dach = 0,0 : 0,0 : 100.

c) Am 31. Juli bis 2. August, bei SO.-Wind:
Dach = 84925 m in 45 Stunden
V = 103 » » 45 »
H = 0 » » 45 »
woraus H : V : Dach = 0,0 : 0,1 : 100.

d) Vom 2./5. August, bei SO.-Wind:

Dach = 202 670 m in 82 Stunden
V = 1 555 » » 82 »
H = 3 » » 82 »

woraus H : V : Dach = 0,0 : 0,8 : 100.

Hinterfenster : Vorderfenster : Dach verhielten sich also im ganzen wie 4 : 830 : 348 085 m in 170 Stunden, oder wie **0,0** : **0,2** : 100, wobei sich die freie Luftgeschwindigkeit über Dach auf 348 085 : 170 = **2048** m/St., das ist 0,57 m/Sek. stellte.

Es gibt somit Hoffenster, an welchen so gut wie gar keine Luftbewegung sich geltend macht. Und der gleiche Fall kann zuzeiten, bei entsprechender Windrichtung nämlich, wie oben unter b) ersichtlich auch für Vorderfenster eintreten.

4. Verschiedene Stockwerke.

In Berlin im Institut verglich ich dann noch verschiedene Etagen im Hinblick auf die Luftbewegung vor dem Fenster. Zunächst wurden auf der Strafsenseite, dann auch auf der Hofseite, jeweils gleichzeitig in zwei Etagen, wie auch über Dach Messungen angestellt, und dem folgte ein Vergleich dreier Etagen unter sich, wobei mangels eines vierten Schalenkreuzes nicht gleichzeitig über Dach gemessen werden konnte.

13. Je ein Schalenkreuz befand sich vor zwei übereinander liegenden, nach der Strafse zu gehenden Nordfenstern der I. und II. Etage, ein drittes Schalenkreuz über Dach.

a) Am 20./21. Juni bei Westwind war:

Dach = 118 490 m/30 St. = **3950** m/St. = 1,10 m/Sek.
I. : II. Etage : Dach = 1,0 : 1,6 : 100.

b) Am 21./22. Juni bei W.—NW.-Wind:

Dach = 81 710 m/19 St. = **4301** m/St. = 1,19 m/Sek.
I. : II. Etage : Dach = 2,0 : 1,0 : 100.

Es kann also vorkommen, wie hier unter b), dafs einmal ein Fenster der I. Etage mehr Wind als ein darüber befindliches Fenster der II. Etage bekommt. Die Regel wird dies aber wohl keineswegs sein. Das zeigt die folgende Versuchsreihe.

14. Je ein Schalenkreuz befand sich vor zwei übereinander liegenden, nach dem grofsen Museumshof hinausgehenden Nordwestfenstern der I. und II. Etage, ein drittes Instrument über Dach.

a) Am 22./23. Juni, bei W.—NW.-Wind, war:
Dach = 132 930 m/22 St. = **6042** m/St. = 1,68 m/Sek.
I. : II. Etage : Dach = 0,5 : 6,0 : 100.

b) Am 23./24. Juni, bei W.—NW.-Wind:
Dach = 151 370 m/24 St. = **6307** m/St. = 1,75 m/Sek.
I. : II. Etage : Dach = 1,0 : 13,3 : 100.

c) Am 24./25. Juni, bei NW.—W.—S.-Wind:
Dach = 90 520 m/25 St. = **3621** m/St. = 1,00 m/Sek.
I. : II. Etage : Dach = 0,2 : 3,7 : 100.

d) Am 25./27. Juni, bei S.—SW.—W.-Wind:
Dach = 362 120 m/47 St. = **7705** m/St. = 2,14 m/Sek.
I. : II. Etage : Dach = 0,9 : 3,1 : 100.

e) Am 27./28. Juni, bei W.—NW.-Wind:
Dach = 160 950 m/31 St. = **5192** m/St. = 1,44 m/Sek.
I. : II. Etage : Dach = 0,5 : 8,3 : 100.

Im ganzen verhielten sich somit I. : II. Etage : Dach wie **3,1** : **34,4** : 500, wobei sich die freie Windgeschwindigkeit über Dach auf 897 890 : 149 = **6026** m in der Stunde, das sind 1,67 m in der Sekunde, bezifferte. In Prozenten des Windes über Dach ist:
3,1 : 34,4 : 500 = 0,62 : 6,88 : 100.

15. Je ein Schalenkreuz befand sich vor zwei übereinander liegenden, nach dem grofsen Museumshof hinausgehenden Nordwestfenstern des Erdgeschosses und der II. Etage, ein drittes Schalenkreuz über Dach.

a) Am 28./29. Juni, bei Westwind, war:
Dach = 59 550 m/14 St. = **4254** m/St. = 1,18 m/Sek.
Parterre : II. Etage : Dach = 8,1 : 11,0 : 100.

b) Am 29./30. Juni, bei fortgesetztem Westwind:
Dach = 68 000 m/25 St. = **2720** m/St. = 0,76 m/Sek.
Parterre : II. Etage : Dach = 4,1 : 5,8 : 100.

Im ganzen verhielten sich somit Parterrefenster : Fenster der II. Etage : Dach = 12,2 : 16,8 : 200, wobei die freie Windgeschwindigkeit über Dach in absoluter Gröfse 127550 : 39 = **3270** m in der Stunde, das sind 0,91 m in der Sekunde, war. In Prozenten des Windes über Dach ist:

12,2 : 16,8 : 200 = 6,1 : 8,4 : 100.

Die Fenster der zweiten Etage eines zweistöckigen Hauses erhalten also regelmäfsig mehr Wind als die Fenster der beiden unteren Stockwerke. Doch scheint ein Vergleich von 14. mit 15. darauf hinzudeuten, dafs sehr wohl die Fenster des Erdgeschosses unter Umständen wesentlich mehr Wind als die Fenster der ersten Etage bekommen können. Daher wurde schliefslich die nächste Versuchsreihe (16.) hinzugefügt, wobei zum Zweck eines Vergleiches der in Rede stehenden drei Etagen unter sich das Schalenkreuz, welches bis dahin auf dem Dach aufgestellt war, vom 30. Juni ab vor dem Fenster der mittleren Etage angebracht wurde.

Es ist zwar noch ein viertes Schalenkreuz im Institut vorhanden, dasselbe hat jedoch viel gröfsere Abmessungen (Schalenabstand wohl etwa 30 cm, bei den kleinen Instrumenten kaum 1½ cm), und ich zog daher vor, lieber in der folgenden Versuchsreihe auf die Bestimmungen über Dach zu verzichten, als an einem der Beobachtungsorte die Messungen nur mit einem ungleichartigen Instrument auszuführen. Allerdings konnte es nebenher von Interesse sein, an einem der Beobachtungsorte einmal aufser dem kleinen auch das grofse Instrument aufzustellen. Dies geschah denn auch in ausgiebiger Weise vom 22. bis 28. Juni vor dem letzterwähnten Fenster des Erdgeschosses, ferner vom 28. Juni bis 1. Juli vor dem darüber befindlichen Fenster der I. Etage. Die Instrumente zeigten, wie nicht vorauszusehen war, mit dem Wechsel der Etage in ungleichem Sinne, aber anscheinend gesetzmäfsig verschieden. Bemerkt sei ausdrücklich, dafs am 28. Juni dieselben beiden Instrumente vom Erdgeschofs in die I. Etage verbracht wurden.

Die Beobachtungsresultate waren folgende für das Verhältnis der Angaben des kleinen und grofsen Schalenkreuzes, zunächst Parterre[1]):

a) Kleines : Grofses Sch.	= 600 : 1590 m	in 22 Stunden	
	= 27,3 : 72,3 »	pro Stunde	
b) » : » »	= 1370 : 3830 »	in 24 Stunden	
	= 57,1 : 160,0 »	pro Stunde	
c) » : » »	= 190 : 710 »	in 25 Stunden	
	= 7,6 : 28,4 »	pro Stunde	
d) » : » »	= 3407 : 3810 »	in 47 Stunden	
	= 72,5 : 81,1 »	pro Stunde	
e) » : » »	= 780 : 2460 »	in 31 Stunden	
	= 25,2 : 79,4 »	pro Stunde,	

woraus sich insgesamt ergibt:

Kleines : Grofses Sch.	= 6347 : 12400 m	in 149 Stunden
	= 42,6 : 83.2 »	pro Stunde
	= **51 : 100.**	

Sodann für das Fenster der I. Etage:

a) Kleines : Grofses Sch.	= 4815 : 317 m	in 14 Stunden
	= 344 : 22,6 »	pro Stunde
b) » : » »	= 2788 : 380 »	in 25 Stunden
	= 111,5 : 15,2 »	pro Stunde
c) » : » »	= 381 : 50 »	in 24 Stunden
	= 16,0 : 2,1 »	pro Stunde,

woraus sich insgesamt ergibt:

Kleines : Grofses Sch.	= 7984 : 747 m	in 63 Stunden
	= 126,7 : 11,9 »	pro Stunde
	= **1070 : 100.**	

Vor dem Parterrefenster zeigte also das kleine Schalenkreuz nur etwa halb so viel Wind an, als das grofse; vor dem darüberliegenden Fenster der I. Etage aber kehrte sich das Ver-

1) Die fünf Zahlenreihen a—e für das Fenster des Erdgeschosses gelten der Reihe nach für folgende Versuchszeiten: 22.—23., 23.—24., 24.—25., 25.—27., 27.—28. Juni 1904, und entsprechend die drei nächsten Zahlenreihen a—c (erste Etage) für 28.—29., 29.—30. Juni, 30. Juni bis 1. Juli.

hältnis um: Das kleine Instrument zeigte mehr, und zwar reichlich zehnmal mehr Wind als das grofse.

Dieses eigentümliche Verhalten dürfte so zu erklären sein, dafs in der Höhe der I. Etage die Windgeschwindigkeit unmittelbar an der Mauer gröfser war als weiter hinaus, indem die Mauer eine Leitfläche für die bewegte Luft bildete, so zwar, dafs die Schalen der weit ausladenden Arme des grofsen Instrumentes weniger beeinflufst wurden. Zu ebener Erde aber war in der Bodenoberfläche eine zweite Leitfläche gegeben, die oben fehlte, unten aber in höherem Mafse auf das grofse Instrument wirken mufste, welches weiter ausholte und so sich rascher drehte, insbesondere, wenn vielleicht zudem der Wind Wirbel bildete und das kleine Instrument in einer mehr oder weniger toten Ecke sich befand. Auf Wirbelbildung komme ich weiter unten zur Erklärung höherer Parterrewerte noch zurück.

Eine etwa bestehende gröfsere Trägheit des einen oder andern der beiden Instrumente[1]) kann zur Aufklärung des eigentümlichen Falles eben wegen der Umkehr des Verhältnisses in den beiden Etagen sicherlich nicht herangezogen werden.

16. Je ein Schalenkreuz befand sich vor drei übereinander liegenden, nach dem grofsen Museumshof gerichteten Nordwestfenstern der drei Stockwerke des Instituts.

a) Am 30. Juni bis 1. Juli war, bei W.—NO.—SO.-Wind:

II. Etage	=	2907 m	in	24	Stunden
I.	» =	15	»	24	»
Parterre	=	**381**	»	24	»

woraus Parterre : I. : II. Etage = 1,31 : 0,05 : 10.

1) Rudel scheint in der unten zitierten Broschüre, S. 15, ein grofses Schalenkreuz mit weitausladenden Armen und grofsen Schalen für weniger empfindlich als ein kleines Instrument anzusehen. Dieser Anschauung kann ich nicht beipflichten, möchte vielmehr zu der Annahme neigen, dafs die längeren Hebelarme und die gröfseren Luftfangschalen der Empfindlichkeit im allgemeinen mehr zugute kommen dürften, als ihr durch das gröfsere Gewicht Abbruch geschieht. Durch Versuche würde ich mich aber eines anderen belehren lassen.

b) Am 1./2. Juli, bei SO.—NW.—Wind:
II. Etage = 1188 m in 25 Stunden
I. » = 56 » » 25 »
Parterre = 8 » » 25 »
woraus Parterre : I. : II. Etage = 0,07 : 0,47 : 10.

c) Am 2./4. Juli, bei NW.—SW.-Wind:
II. Etage = 6747 m in 50 Stunden
I. » = 268 » » 50 »
Parterre = 400 » » 50 »
woraus Parterre: I. : II. Etage = 0,59 : 0,40 : 10.

d) Am 4./5. Juni, bei NW.-Wind:
II. Etage = 9900 m in 22 Stunden
I. » = 292 » » 22 »
Parterre = 587 » » 22 »
woraus Parterre : I. : II. Etage = 0,59 : 0,29 : 10.

e) Am 5./6. Juni, bei NW.—W.—SW.-Wind:
II. Etage = 1467 m in 24 Stunden
I. » = 18 » » 24 »
Parterre = 10 » » 24 »
woraus Parterre : I. : II. Etage = 0,07 : 0,12 : 10.

Im ganzen verhielten sich somit Parterrefenster : Fenster der I. Etage : Fenster der II. Etage wie 1386 : 649 : 22209 m in 145 Stunden = 9,56 : 4,48 : 153 m in 1 Stunde = 3,12 : 1,46 : 50. In Prozenten des Windes vor dem Fenster über 2 Treppen ist:

3,12 : 1,46 : 50 = 6,24 : 2,92 : 100.

In Prozenten des Dachwertes ergibt sich somit aus den Versuchsreihen 14.—16. für die Luftbewegung vor den Fenstern der drei Etagen:

	Parterre —	I. Etage —	II. Etage —	Dach	(absolut)
Aus 14.	— %	0,6 %	6,9 %	100	(ca. 6000 m/St.)
» 15.	6,1 »	— »	8,4 »	100	(» 3000 »)
» 16.	0,6 »	0,3 »	10,0 »	—	
Mittel	ca. 3,5 »	ca. 0,5 »	ca. 7,5 »	100	(» 4500 »)
m/St.	» 160	20	340	4500 m	pro Stunde
m/Sek.	» 0,040	0,006	0,100	1,300 »	» Sekunde.

Der höhere Wert für das Parterrefenster ist nicht leicht völlig zu verstehen. Vermutlich spielen bei seinem Zustandekommen Luftwirbel eine entscheidende Rolle, die sich zu ebener Erde bilden können, ohne in die Höhe der mittleren Etage überzugreifen. Hierbei wird es, abgesehen von der baulichen Situation, nicht nur auf die Himmelsrichtung, aus welcher der Wind kommt und welche ja leicht feststellbar ist, wennschon sie in länger dauernden Versuchen unversehens des öfteren wechseln mag, ankommen, sondern auch besonders auf den Winkel in der Vertikalebene, unter dem der Wind zufällig auf diesem oder jenem Teil des Gebäudes liegt — eine schwerer meſsbare Gröſse. Denn wie aus mehreren Einzelversuchen der obigen Reihen (Nr. 15, b und e) ersichtlich, erhielt zuweilen auch das Parterrefenster weniger Wind als jenes der mittleren Etage.

Aus den Versuchsreihen Nr. 14 und 15 zeigt sich ferner, daſs einer höheren Windintensität im Freien durchaus nicht allgemein eine höhere Windgeschwindigkeit vor dem Fenster zu entsprechen braucht. Schon in den Versuchen Nr. 7 und 8 oben prägte sich ja deutlichst der Einfluſs der Windseite aus. Aber ceteris paribus wird selbstverständlich eine höhere freie Luftgeschwindigkeit regelmäſsig mit einer gröſseren Geschwindigkeit des Windes vor dem Fenster vergesellschaftet sein.

Berlin hat nun eine recht geringe Windstärke, wie bekannt und wie sich auch in den obigen Berliner Versuchen ausprägt. Bei Übertragung auf eine andere Örtlichkeit wären daher meistens die absoluten Berliner Geschwindigkeiten auch für die Umgebung des Wohnhauses entsprechend zu erhöhen.

Bei Gelegenheit der Versuche in Adlershof war mir schon durch die bloſse Empfindung aufgefallen, daſs drauſsen in dem Vorort die Luft bewegter als in Berlin C zu sein schien, und ich habe daher Anlaſs genommen, nebenher mittels eines mehrtägigen Versuchs die Luftbewegung auf der Adlershofer Turnhalle mit dem Dach des Berliner Instituts zu vergleichen.

17. Je ein Schalenkreuz befand sich durch vier Versuchstage hindurch auf dem Dach der Adlershofer Turnhalle und gleichzeitig auf dem Dach des Berliner Instituts. (16./20. Juli 1904.)

Die Messungsergebnisse waren folgende:

Adlershof	= 863 950 m	in 4 Tagen		
	= 220 988 »	pro Tag		
	= **9208** »	»	Stunde	
	= 2,56 »	»	Sekunde.	
Berlin	= 445 570 m	in 4 Tagen		
	= 124 344 »	pro Tag		
	= **5181** »	»	Stunde	
	= 1,44 »	»	Sekunde.	

Die freien Windgeschwindigkeiten von Berlin und Adlershof verhielten sich also in der Zeit vom 16./20. Juli 1904 wie 5181 : 9208 m stündlich, das ist wie 56 : 100 oder mit anderen Worten: Adlershof hatte beinahe doppelt so viel Wind als Berlin. Vielleicht bildet ein ähnliches Verhältnis die Regel. Jedenfalls ist eine höhere Windzahl in erster Linie daran beteiligt, dafs exzessive sommerliche Temperaturen in den Vororten weit leichter als im Zentrum Berlins ertragen werden.

Die freie Windgeschwindigkeit von Adlershof an jenen Julitagen mit rund 2,6 m in der Sekunde kann nicht einmal als eine besonders hohe bezeichnet werden. Beispielsweise beträgt in Nürnberg die mittlere Windgeschwindigkeit im Juli 3,4 und im Jahre 3,3 m in der Sekunde[1]), ohne dafs mir bei jahrelangem Aufenthalt daselbst die Stadt ausnehmend windig vorgekommen wäre; aber freilich, die Luft wird dort auch bei grofser Sommerhitze erfrischender als in Berlin empfunden.

18. Um einen Anhalt über den Wechsel der Windgeschwindigkeit zu bieten, wie solche sicherlich auch an vielen anderen

1) Nach Messungen von Professor Rudel, Vorstand der Nürnberger Wetterwarte. Vgl.: Rudel, Grundlagen zur Klimatologie Nürnbergs, Nürnberg, Stich, 1904. »Die Mittelwerte sind nicht aus Geschwindigkeitsbestimmungen einzelner Zeitpunkte berechnet, sondern aus den mittleren (mittels eines Robinsonschen Schalenkreuzes von Schulze-Dorpat gemessenen) Geschwindigkeiten des 24 stündigen Tages.« Angebracht ist das Anemometer auf einem Turm der Hauptfeuerwache, 19 m über Strafsenpflaster.

Orten in ähnlicher Weise bestehen, mögen folgende Nürnberger Zahlen für das letzte Jahrfünft nach Rudel hier einen Platz finden.

Freie Windgeschwindigkeit in Nürnberg, 1899—1903.

(Die Zahlen bedeuten Meter in der Sekunde.)

Windgeschwindigkeit	Januar	Februar	März	April	Mai	Juni	Juli	August	Septemb.	Oktober	Novemb.	Dezemb.	Im Jahr
Mittlere	3,5	3,2	3,4	3,5	3,3	3,4	3,4	3,2	3,2	3,1	3,2	3,4	3,3
Gröfste monatliche	3,7	3,5	3,7	3,7	3,6	3,8	4,0	3,5	3,4	3,3	3,7	3,6	4,0
Kleinste monatl. .	3,3	3,0	3,1	3,3	3,2	3,2	3,0	3,0	2,8	2,8	2,7	3,2	2,7
Gröfste tägliche .	8,2	7,6	6,8	5,8	5,3	7,9	5,9	5,8	7,5	8,1	7,5	6,5	8,2
Kleinste tägliche .	1,8	2,2	2,2	3,1	2,3	1,6	2,3	2,3	1,8	1,3	2,1	1,7	1,3

Hieran knüpft Rudel die Mitteilung einiger hoher Einzelwerte an Luftgeschwindigkeiten, wie sie Ablesungen am Schalenkreuz ergeben haben. »Es wurden 15 m bestimmt am 13. Januar 1899, 16 m am 23. Juni 1900, 15 m am 27. Januar 1901, 14 m am 29. Juni und am 1. Dezember 1901, auch am 7. August 1902, bis 18½ m 11. September 1903.« Dabei ist zu berücksichtigen: »Da keine Registriervorrichtung besteht, so sind auch diese Bestimmungen (wie alle Messungen mittels des Schalenkreuzes, welche eben den mittleren Zustand eines mehr oder minder langen Zeitraums geben) mehr zufälliger Natur und sicher nicht die gröfsten, die überhaupt vorkamen. Ferner ist ja zum Entstehen der Zahl der abzulesenden Umläufe des Instrumentes eine gewisse, wenn auch noch so kurze Zeit nötig, innerhalb deren die Geschwindigkeit stark wechselt; die Ablesungen können somit ihrer Entstehung nach nur Mittelwerte und damit kleinere Zahlen ergeben, als den stärksten Windstöfsen zukommt.«

Versuche auf Deep bei Wufsecken an der Ostsee.

Zur Ergänzung der besprochenen Versuche waren Beobachtungen in stürmisch bewegter Luft von ganz besonderem Interesse, weil sich da zeigen mufste, ob der niedrige Quotient, wie

ihn die Berliner Versuche für die Hausnähe im Verhältnis zu der ungebrochenen Luftgeschwindigkeit ergeben hatten, ohne gröfsere Einschränkung übertragbar sei.

Am 7. bis 8. August 1904 stellte ich daher auf Kösliner Deep, einem Fischerdörfchen, das auf einer ganz schmalen (wohl nur einige hundert Meter breiten) Nehrung zwischen der Ostsee und dem Jamundersee gelegen und somit dem Wind besonders exponiert ist, einige Versuche an und fand nachstehende Zahlen.

19. Schalenkreuz I wurde vor dem Fenster des gegen 3 m hohen Wohnhauses des Fischers Holz, Nr. 24, und Instrument II auf dem Dach des etwa 10 m hiervon entfernten, ungefähr 2 m hohen Aborthäuschens aufgestellt.

a) Am 7. August (Sonntag) ergab sich für die Zeit von 9 Uhr vormittags bis 4 Uhr nachmittags:

Fenster = 16 608 m in 7 Stunden
= **2372** » pro Stunde
= 0,7 » » Sekunde.
Dach = 201 802 m in 7 Stunden
= **28829** » pro Stunde
= 8,0 » » Sekunde.
Fenster : Dach = 16 608 : 201 802 = **8,2** : 100.

b) In der Nacht vom Sonntag auf Montag konnte aus verschiedenen Gründen das vor dem Fenster befindliche Instrument nicht im Betrieb belassen werden.

Das zweite Instrument ergab für die Zeit vom Sonntag, 4 Uhr nachmittags, bis Montag, 8 Uhr vormittags, einen kolossal hohen Wert. Über Nacht war nämlich das Wetter so stürmisch geworden, dafs die Deeper Fischer nicht daran denken konnten, Montag vormittags um 2 Uhr in gewohnter Weise auf Flunderntang auszugehen, um mit ihrem Fang dann vormittags noch rechtzeitig über den Jamundersee nach dem Kösliner Markt zu kommen.

Folgende Zahl wurde ermittelt, welche keinesfalls den Höchstwert der Windgeschwindigkeit in jener stürmischen Nacht bedeutet.

Dach = 964900 m in 16 Stunden (7./8. Aug. 1904)
= **60306** » pro Stunde
= 16,8 » » Sekunde.

c) Am 8. August (Montag) ergab sich für die Zeit von 8 Uhr vormittags bis 7 Uhr nachmittags, bei weiter anhaltender stürmischer Witterung:

Fenster = 101555 m in 11 Stunden
= **9332** » pro Stunde
= 2,6 » » Sekunde.
Dach = 728405 m in 11 Stunden
= **66219** » pro Stunde
= 18,4 » » Sekunde.
Fenster : Dach = 101555 : 728405 = **14,0** : 100.

Die Quotienten mit 8,2 bis 14,0/100 für die Windgeschwindigkeit vor dem Fenster sind durchaus nicht auffällig hoch, wenn man die Berliner Versuche, besonders die Vorortversuche vergleicht; sie decken sich mit mehreren Berliner Versuchsresultaten; in Adlershof wurden zeitweise noch höhere Quotienten nachgewiesen, freilich war dies nicht die Regel.

Im grofsen Ganzen läfst sich wohl sagen:

Die Windgeschwindigkeit in nächster Nähe eines Wohnhauses, insbesondere vor den Fenstern und in Höfen, beträgt nur in seltenen Fällen mehr als etwa 10% der freien Windgeschwindigkeit, meistens aber nur einige wenige Prozent, zuweilen nur einige Promille dieser Gröfse.

Über den Einflufs der landhausmäfsigen Bebauung auf die natürliche Ventilation der Wohnräume.

Von

Privatdozent Dr. **Heinrich Wolpert.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Zu einer Zeit, wo der Entwurf eines preufsischen Wohnungsgesetzes eben vorliegt, und der Erste Deutsche Wohnungskongrefs vor der Tür steht, dürfte eine Mitteilung über Versuche von aktuellem Interesse sein, die zum Ziel hatten, nach einer Richtung, nämlich hinsichtlich der natürlichen Ventilation der Wohnräume, einmal die hygienische Bedeutung der landhausmäfsigen Bebauung[1]) und überhaupt der offenen Bauweise[2]) zahlenmäfsig klarzustellen.

Als Versuchsräume dienten mir Wohnungen in freistehenden Häusern der »Berliner Baugenossenschaft« in Adlershof bei Grünau[3]), zunächst wenigstens. Späterhin bezog ich auch einige andere Gebäude in die Untersuchungen ein.

Wie die nachstehende Übersicht zeigt, lagen die untersuchten Räume fast alle in der Genossenschaftstrafse und Sedanstrafse.

1) Im Sinne der Bauordnung für die Vororte Berlins von 1892.

2) Bauordnung für die Vororte Berlins vom 21. April 1903.

3) Der »Berliner Baugenossenschaft« in Berlin W., Steglitzer Strafse 19, und namentlich deren Geschäftsführer und Vorstandsmitglied. Herrn E. Syring in Adlershof, bin ich für das grofse Entgegenkommen und die ständige Hilfsbereitschaft in jeder Hinsicht bei Ausführung dieser Versuche zu ergebenstem Danke verpflichtet.

Genossenschaftstrafse 26 wurden zwei, Nr. 20 wie auch Sedanstrafse 22 drei **unmittelbar übereinander liegende Zimmer** untersucht.

Untersuchte Räume.

I. Genossenschaftstrafse, Häuser erbaut von der Berliner Baugenossenschaft.

1. Haus Nr. 17, Etage I, bei Müller, einmal untersucht
2. » » 20, » 0, » Prödel, dreimal »
3. » » 20, » I, » Steinert, einmal »
4. » » 20, » II, » Steinert, viermal »
5. » » 26, » 0, » Schnell, dreimal »
6. » » 26, » I, » Abröck, einmal »

II. Sedanstrafse Nr. 22, ebenfalls erbaut von der Berliner Baugenossenschaft.

1. Etage 0, bei Mälzer, einmal untersucht
2. » I, » Reinbold, zweimal »
3. » II, » Mälzer, einmal »

III. Sedanstrafse Nr. 4 (Seitenflügel), Haus von anderer Seite erbaut, Eigentümer Herr Köhler.

1. Seitenflügel, Etage I, kleines Zimmer, einmal untersucht
2. » » I, grofses » zweimal »
3. » » II, Berliner » » »

IV. Gemeindegebäude (Schule in Bismarckstr. und Turnhalle).

1. Schulsaal von 175 cbm [1]), zweimal untersucht
2. Turnhalle » 1400 » dreimal »

Die Fensterseite sämtlicher Genossenschaftswohnungen, soweit solche zur Untersuchung kamen, in der Genossenschaftstrafse wie in der Sedanstrafse, ging nach Nordost, jene der übrigen Wohnräume nach Südost (Generaltabelle, Abt. I). Die untersuchten Zimmer waren sämtlich bewohnt und ausnahmslos in bestem baulichen Zustand, alle Häuser bereits vor einer längeren

1) Schulsaal der mit 55 Knaben besetzten Klasse IV M.

Reihe von Jahren erbaut. Durchweg handelte es sich um Backsteinbau. Die meisten Räume waren tapeziert und zweifenstrig, Doppelfenster wurden nur in 3 von 14 Fällen angetroffen. Die Raumgröfse schwankte bei den Genossenschaftswohnungen, welche für die Lösung der vorliegenden Frage hauptsächlich in Betracht kommen, innerhalb sehr geringer Grenzen, nämlich nur zwischen 53 und 66 cbm, Das »Berliner Zimmer« des Köhlerschen Hauses hatte 85, die beiden anderen Köhlerschen Seitenflügel-Zimmer 29 und 65 cbm Inhalt. Das Schulzimmer fafste 175 und die Turnhalle annähernd 1400, genauer (einen kleinen, mit ihr zusammenhängenden Vorbau inbegriffen) 1408 cbm (Generaltabelle, Abt. II.)

Die untersuchten Genossenschaftshäuser stehen sämtlich völlig frei, auch bei der Turnhalle ist dies der Fall. Das Köhlersche Wohnhaus und das Schulhaus liegen eingebaut. Die Genossenschaftshäuser der Genossenschaftstrafse sind älter und mit besserem Baumaterial aufgeführt als jene der Sedanstrafse. Über die Qualität des Baumaterials bei den übrigen Häusern konnte ich nichts Sicheres in Erfahrung bringen.

Die Versuche wurden in der Zeit vom 7. bis 26. Juli 1904 ausgeführt. An den meisten Tagen war es sehr warm, an allen Versuchstagen schien die Sonne, die Temperatur der Zimmerluft war daher in der Regel niedriger als die Schattentemperatur im Freien; in Versuch Nr. 22 und 25, wo die Zimmerluft eine höhere Temperatur aufwies, lag, wie sich später herausstellte, eine Backstube, in welcher während dieser Versuche gerade gebacken wurde, unterhalb des untersuchten Zimmers. (Generaltabelle, Abt. III.) Im allgemeinen sind also diese Ventilationsversuche typisch für hochsommerliche Verhältnisse.

Die Ventilationsbestimmungen selbst geschahen, wie bei meinen früher veröffentlichten Versuchen, anthrakometrisch mit Hilfe der Seidelschen Formel:

$$E = 2{,}3 \log \frac{K_1 - k}{K_2 - k},$$

worin auch k, der CO_2-Gehalt der Aufsenluft, experimentell erhoben und stets um 0,4 promille gefunden wurde. Die Werte

für die Lufterneuerung (E) sind in Abt. IV der Generaltabelle auf die Stunde umgerechnet, während die wirkliche Versuchszeit, nach deren Ablauf als Kohlensäuregehalt K_2 sich ergab, immer auf mehrere, meistens auf 4 bis 5 Stunden normiert wurde. Wie früher wurde als Kohlensäurequelle, zur raschen Erreichung eines möglichst hohen anfänglichen Kohlensäuregehaltes (K_1), komprimierte flüssige Kohlensäure benutzt.

Ausnahmslos wurden sämtliche Luftproben (K_1, K_2, k) doppelt entnommen und nach der Pettenkoferschen Methode analysiert. Die üblichen Glaskolben zur Luftentnahme ersetzte ich diesmal wegen ihrer leichten Zerbrechlichkeit, durch die früheren auswärtigen Versuche gewitzigt, durch Glasflaschen aus starkwandigem Glase mit dem Erfolg, dafs keine eiuzige der benutzten 24 Stück Fünfliterflaschen verunglückte.

Das Einfüllen des Barytwassers in die Flaschen, das Umschütteln der Flaschen (diesmal mittels einer durch einen Heifsluftmotor mit Spiritusfeuerung betriebenen Schüttelmaschine), sowie das Umfüllen des Barytwassers nach dem 10 minutlichen Schütteln in Fläschchen besorgte ich in Adlershof selbst, und zwar mit Vorteil, der kohlensäureärmereu Luft halber, im Freien, in einer als Standquartier hergerichteten Gartenlaube, während ich die Austitrierung der Versuche zu Hause, im Laboratorium des Instituts, vornahm.

Die in Abt. III der Generaltabelle bei den einzelnen Versuchen angegebenen Windgeschwindigkeiten pro Stunde, für »vor Fenster« und »über Dach«, wurden mit Hilfe einiger kleiner, genau justierter Robinsonschen Schalenkreuzauemometer in der Weise bestimmt, dafs die Instrumente während der ganzen mehrstündigen Versuchszeit in Betrieb waren uud die Beobachtungsresultate hieraus auf die Stunde umgerechnet wurden. Nähere Mitteilungen über diese Schalenkreuze finden sich in einer vorausgehenden Arbeit [1]), woselbst auch die hier gemessenen Windgeschwindigkeiten schon Gegenstand einer Besprechung waren.

1) Wolpert, Über die Gröfse der Luftbewegung in der Nähe menschlicher Wohnungen. Archiv f. Hygiene, Bd. 52, S. 22.

Leider war es infolge des hohen Anschaffungspreises der Instrumente nicht möglich, die Windmessungen in allen diesen Ventilationsversuchen gleichzeitig vor Fenster und über Dach auszuführen, wollte ich nicht die Anzahl der Versuche zu sehr beschränken. Es erwies sich aber für den Entscheid der vorliegenden Frage angängig, wie geschehen in den meisten Fällen nur vor dem Fenster zu messen, in einer Anzahl von Fällen nur über Dach, und nur in wenigen Fällen vor Fenster und über Dach; so konnte ich mit nur drei Schalenkreuzen auskommen.

Ich will nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daſs sich Herr Dr. Jorns, zurzeit Kreisassistenzarzt in Marienwerder, in der Absicht, die Methodik derartiger Versuche sich gründlich anzueignen, an dem gröſsten Teil der Adlershofer Versuche in dankenswertester Weise beteiligt hat.

Die erhaltenen Versuchsresultate nebst allen zugehörigen Angaben sind am Schlusse dieser Arbeit in einer zeitlich geordneten Generaltabelle zusammengetragen. Die nachstehende Übersicht, nach Straſsen und Hausnummern geordnet, ist ein Auszug aus der Generaltabelle. Hierzu sei bemerkt, was für manche Erwägungen, wie besonders hinsichtlich der Wirkung verschiedener Winde, von Belang sein wird, daſs die Numerierung der hauptsächlich in Betracht kommenden Genossenschaft- und Sedanstraſse, welche beide von Südost nach Nordwest laufen, östlich auf der Südwestseite der Straſse beginnt, um wiederum östlich auf der Nordostseite zu endigen. Auf der Nordostseite liegen in beiden Straſsen alle untersuchten, von der Berliner Baugenossenschaft erbauten Häuser; nur das Köhlersche Anwesen geht mit der Vorderfront nach Südwesten, sein allein untersuchter linker Seitenflügel jedoch ist nach Südosten gerichtet.

a) Genossenschaftstraſse.

1. Haus Nr. 17/I, Raum 65 cbm, $1^1/_2$ Auſsenwand, $-3{,}4°$, 3635 m/St. vor Fenster, Doppelfenster, lieferte am 13. Juli . . . $E = \mathbf{0{,}36}$ bei Ostwind; Wind drückte auf Fensterwand.

2. Haus Nr. 20/0, Raum 60 cbm, zwei Aufsenwände, — 5,7 °, 2 m/St. vor Fenster, Doppelfenster, lieferte am 7. Juli . . . $E = \mathbf{0,16}$ bei NW.-Wind; so gut wie windstill vor Fenster.

3. » » 20/0, derselbe Raum, — 1,0 °, 14 m/St. vor Fenster, lieferte am 20. Juli $E = \mathbf{0,22}$ bei Ostwind; schwacher Wind drückte auf Fensterwand.

4. » » 20/0, derselbe Raum, — 2,8 °, 106 m/St. vor Fenster, lieferte am 21. Juli $E = \mathbf{0,27}$ bei Westwind; Wind sog an Fensterwand.

5. » » 20/I, Raum 60 cbm, zwei Aufsenwände, — 3,0 °, 1826 m/St. vor Fenster, Doppelfenster, lieferte am 8. Juli . . . $E = \mathbf{0,19}$ bei NW.-Wind; Wind sog an Fensterwand.

6. » » 20/II, Raum 53 cbm, drei Aufsenwände, — 2,6 °, 5 m/St. vor Fenster, keine Doppelfenster, lieferte am 7. Juli . $E = \mathbf{0,31}$ bei NW.-Wind; fast windstill.

7. » » 20/II, derselbe Raum, — 2,0 °, 1128 m/St. vor Fenster, lieferte am 13. Juli $E = \mathbf{0,52}$ bei Ostwind; Wind drückte auf Fensterwand.

8. » » 20/II, derselbe Raum, — 0,5 °, 1160 m/St. vor Fenster, lieferte am 20. Juli $E = \mathbf{0,34}$ bei Ostwind; Wind drückte auf Fensterwand.

9. » » 20/II, derselbe Raum, — 0,6 °, 1172 m/St. vor Fenster, lieferte am 21. Juli $E = \mathbf{0,44}$ bei Westwind; Wind sog an Fensterwand.

10. » » 26/0, Raum 57 cbm, eine Aufsenwand, — 5,7 °, 59 m/St. vor Fenster, lieferte am 7. Juli $E = \mathbf{0,17}$ bei NW.-Wind; fast windstill vor Fenster.

11. » » 26/0, derselbe Raum, — 1,0 °, 5002 m/St. über Dach, lieferte am 20. Juli $E = \mathbf{0,25}$ bei Ostwind; Wind drückte an Fensterwand.

12. » » 26/0, derselbe Raum, — 0,9 °, 7467 m/St. über Dach lieferte am 21. Juli $E = \mathbf{0,36}$ bei Westwind; Wind sog an Fensterwand.

13. Haus Nr. 26/I, Raum 60 cbm, eine Aufsenwand, — 1,9°, 215 m/St. vor Fenster, lieferte am 8. Juli
$E = $ **0,19** bei NW.-Wind;
Wind sog an Fensterwand.

b) **Sedanstrafse Nr. 22, Genossenschaftshaus (neueres).**

14. Parterre, Raum 65 cbm, eine Aufsenwand, — 5,1°, 576 m/St. vor Fenster, lieferte am 14. Juli
$E = $ **0,65** bei SO.-Wind;
Wind sog an Aufsenwand.

15. I. Etage, Raum 66 cbm, eine Aufsenwand, — 0,8°, 365 m/St. vor Fenster, lieferte am 8. Juli
$E = $ **0,56** bei Westwind
Wind sog an Aufsenwand.

16. I. » derselbe Raum, — 3,0°, 1221 m/St. vor Fenster, lieferte am 8. Juli . . $E = $ **0,39** bei NW.-Wind;
Wind sog an Aufsenwand.

17. II. » Raum 59 cbm, eine Aufsenwand, — 2,8°, 1059 m/St. vor Fenster, lieferte am 13. Juli
$E = $ **0,71** bei Ostwind;
Wind drückte auf Aufsenwand.

c) **Sedanstrafse Nr. 4, Seitenflügel.**

18. Seitenflügel/ I, Raum 29 cbm, eine Aufsenwand, + 5,5°, 5365 m/St. über Dach, lieferte am 26. Juli
$E = $ **0,20** bei Westwind
Wind sog an Aufsenwand.

19. » I, Raum 65 cbm, zwei Aufsenwände, — 0,4°, 908 m/St. vor Fenster, lieferte am 14. Juli
$E = $ **0,26** bei SO.-Wind;
Wind drückte auf Fensterwand.

20. » I, derselbe Raum, + 3,0°, 25 m/St. vor Fenster lieferte am 22. Juli $E = $ **0,16** bei Westwind;
fast windstill vor Fenster.

21. Seitenflügel II, Berliner Zimmer, 85 cbm, ½ Aufsenwand, — 2,9°, 1325 m/St. vor Fenster, lieferte am 14. Juli . . . . $E = \mathbf{0{,}20}$ bei SO.-Wind; Wind drückte auf Aufsenwand.

22. » II, derselbe Raum, — 1,0°, 40 m/St. vor Fenster, lieferte am 22. Juli $E = \mathbf{0{,}13}$ bei Westwind; Wind sog schwach an Aufsenwand.

d) **Schulzimmer in der Bismarckstrafse.**

23. Parterre, Raum 175 cbm, eine Aufsenwand, — 3,3°, 7467 m/St. über Dach, lieferte am 21. Juli $E = \mathbf{0{,}37}$ bei Westwind; Wind sog an Aufsenwand.

24. » derselbe Raum, — 3,6°, 5070 m/St. über Dach, lieferte am 22. Juli . . $E = \mathbf{0{,}26}$ bei SW.-Wind; Wind sog an Aufsenwand.

e) **Turnhalle, freistehend, 1408 cbm.**

25. Bei + 1,0°[1]) am 14. Juli, 5400 m/St. über Dach, $E = \mathbf{0{,}13}$.
26. » — 4,0°[2]) » 15. » 5850 » » » $E = \mathbf{0{,}11}$.

Rechnet man Mittelwerte für die wiederholt untersuchten Wohnungen (*), so erhält man die nachstehenden Zahlen für die stündliche Lufterneuerung (E):

Genossenschaftstrafse	17/I	$E = 0{,}36$	(1½ Aufsenwand)
»	20/0	$E = 0{,}22$*	(2 Aufsenwände)
»	20/I	$E = 0{,}19$	(2 »)
»	20/II	$E = 0{,}40$*	(3 »)
»	26/0	$E = 0{,}26$*	(1 Aufsenwand)
»	26/I	$E = 0{,}19$	(1 »)
Sedanstrafse	22/0	$E = 0{,}65$	(1 Aufsenwand)
»	22/I	$E = 0{,}48$*	(1 »)
»	22/II	$E = 0{,}71$	(1 »)

1) Im Zimmer wärmer als im Freien (+).

2) Im Zimmer kälter als im Freien (—).

Sedanstrafse	4/Seitenfl. I (a)	$E = 0{,}20$	(1 Aufsenwand)
»	4/Seitenfl. I (b)	$E = 0{,}21^*$	(2 Aufsenwände)
»	4/Stfl. II (B. Z.)	$E = 0{,}16^*$	($^1/_2$ Aufsenwand)
Schulzimmer		$E = 0{,}31^*$	(1 Aufsenwand)
Turnhalle		$E = 0{,}12^*$	(4 Aufsenwände)

Einen besseren kurzen Überblick bieten wohl die nachstehenden Zusammenstellungen, welche nach der Folge der Versuchstage geordnet sind. Dabei ist die offene und die geschlossene Bauweise getrennt behandelt. Hinsichtlich einiger Einzelpunkte, wie Windrichtung und Windwirkung, mufs auf die obige Übersicht oder die Generaltabelle verwiesen werden.

I. Freistehende Häuser.

Vers.	1,	7.VII.	G.-Str.	26/0, 57,4	cbm,	$E = 0{,}17$	bei	59	m/St.	W.v.F.n.	—5,7°	Diff.
»	2,	»	»	20/0, 59,8	»	» = 0,16	»	2	»	» » »	—5,7°	»
»	3,	»	»	20/II,52,5	»	» = 0,31	»	5	»	» » »	—2,6°	»
»	4,	8.VII.	»	20/I, 59,8	»	» = 0,19	»	1826	»	» » »	—3,0°	»
»	5,	»	»	26/I, 60,4	»	» = 0,19	»	215	»	» » »	—1,9°	»
»	6,	»	S.-Str.	22/I, 66,0	»	» = 0,39	»	1221	»	» » »	—3,0°	»
»	7,	13.VII.	G.-Str.	20/II,52,5	»	» = 0,52	»	1128	»	» » »	—2,0°	»
»	8,	»	»	17/I, 65,3	»	» = 0,36	»	3635	»	» » »	—3,4°	»
»	9,	»	S.-Str.	22/II,59,0	»	» = 0,71	»	1059	»	» » »	—2,4°	»
»	10,	14.VII.	»	22/0, 65,5	»	» = 0,65	»	576	»	» » »	—5,1°	»
»	14,	20.VII.	G.-Str.	20 0, 59,8	»	» = 0,22	»	14	»	» » »	—1,0°	»
»	15,	»	»	20/II,52,5	»	» = 0,34	»	1160	»	» » »	—0,5°	»
»	16,	»	»	26/0, 57,4	»	» = 0,25	»	—	»	» » »	—1,0°	»
»	17,	21.VII.	»	20/0, 59,8	»	» = 0,27	»	106	»	» » »	—2,8°	»
»	18,	»	»	20/II,52,5	»	» = 0,44	»	1172	»	» » »	—0,6°	»
»	19,	»	»	26/0, 57,4	»	» = 0,36	»	—	»	» » »	—0,9°	»
»	21,	22.VII.	S.-Str.	22/I, 66,0	»	» = 0,56	»	365	»	» » »	—0,8°	»

Mittel: 59,0 cbm, $E = 0{,}35$ bei 836 m/St. W.v.F. u. —2,5° Diff.

Ia. Die Turnhalle (freistehend) 1408,0 cbm.

Versuch 13a, 14.VII.04, $E = 0{,}13$ bei 5400 m/St. Wind üb. Dach n. + 1,0° Diff.
» 13b, 15. » » » = 0,11 » 5850 » » » » » —4,0° »

Mittel: $E = 0{,}12$ bei 5625 m/St. Wind über Dach und 2,5° Diff.

Die Wände der Turnhalle sind mit Leimfarbe gestrichen. Die Mauern sind aufsen nicht verputzt.

II. Das eingebaute Haus, Sedanstrafse 4, Seitenflügel.

Vers.								
11, 14.VII.	Sfl./I, 2 fenstr.,	65,1 cbm,	$E = 0,26$	bei 908	m/St.	W.v.F. u.	$-0,4^\circ$	Diff.
12, »	Sfl./II, Berl. Z.,	84,5 »	» = 0,20	» 1325	»	» » » »	$-2,9^\circ$	»
22, 22.VII.	Sfl./I, 2 fenstr.,	65,1 »	» = 0,16	» 25	»	» » » »	$+3,0^\circ$	»
23, »	Sfl./II, Berl. Z.,	84,5 »	» = 0,13	» 40	»	» » » »	$-1,0^\circ$	»
25, 26.VII.	Sfl./I, 1 fenstr.,	29,0 »	» = 0,20	» 5365	»	» üb.D. »	$+5,5^\circ$	»

Mittel: 65,6 cbm, $E = 0,19$ bei (753) m/St. W.v. F. u. $2,5^\circ$ Diff.

IIa. Die Schule (eingebaut) 175,0 cbm.

Versuch 20, 21. VII. 04,	$E = 0,37$	bei 7467	m/St.	Wind üb. Dach u.	$-3,3^\circ$	Diff.
» 24, 22. » »	» = 0,26	» 5070	»	» » » »	$-3,6^\circ$	»

Mittel: $E = 0,32$ bei 6269 m/St. Wind üb. Dach u. $-3,5^\circ$ Diff.

Die Wände der Schule sind mit Wasserfarbe gestrichen. Die Mauern sind aufsen verputzt.

Es zeigte sich also, dafs die Zimmer der freistehenden Häuser (I) für die Stunde durchschnittlich eine 0,35malige, jene des eingebauten Hauses (II) hingegen nur eine 0,19malige Lufterneuerung hatten. Berücksichtigt man, dafs einerseits die Häuser I völlig frei stehen, anderseits aber das Haus II nicht völlig eingebaut ist, indem der Hof nach Nordosten keine Hausmauer aufweist, vielmehr an das freie Feld grenzt, also der in Betracht kommende linke Seitenflügel von nordöstlichen bis östlichen Winden unmittelbar getroffen wird[1]), so kann man versucht sein, den Schlufs zu ziehen, ein völlig eingebautes Haus stehe hinsichtlich seiner natürlichen Lufterneuerung noch erheblich mehr als im Verhältnis von 0,19 : 0,35 oder von 54 : 100 hinter der landhausmäfsigen Bebauung zurück.

Aus einem Vergleich der beiden Übersichten I und II läfst sich jedoch aus dem Grunde überhaupt nichts Sicheres folgern,

1) Das Hinterhaus im Bereich der geschlossenen Bebauung Berlins ist weit stärker eingebaut und gestattet dem Wind, aus welcher Richtung er auch kommen mag, überhaupt keinen oder überaus beschränkten Zutritt. Denn an das Vorderhaus mit fünf Wohngeschossen, welches an sich schon ein eingebautes Reihenhaus ist, schliefsen sich typisch nach rückwärts zwei durchgehende Seitenflügel und ein, auch mehrere Quergebäude von gleicher Höhe an. Die entstehenden Höfe, mehr Schächte, sind völlig von hohen Mauern umschlossen. Nebenbei bemerkt, führt das Quergebäude in Berlin regelmäfsig nicht diesen Namen, sondern heifst euphemistisch Gartenhaus.

weil über die Beschaffenheit des **Baumaterials** bei dem eingebauten Hause nichts Zuverlässiges bekannt ist und aus II nur **ein einzelnes Haus** zum Vergleich steht.

Wie grofsen Einflufs möglicherweise das Baumaterial haben kann, ergibt sich aus der folgenden Zusammenstellung. Darin sind aus Übersicht I die Häuser nach Strafsen geschieden.

Vergleich von Genossenschaftstrafse mit Sedanstrafse.

(Hier wie dort Genossenschaftshäuser nach gleichem Schema.)

1. Genossenschaftstrafse.

Versuch 1,	7.VII.	Nr. 26/0,	57,4 cbm,	E = 0,17 bei	59	m/St.W.v.F. u.	−5,7° Diff.
» 2,	»	» 20/0,	59,8 »	» = 0,16 »	2	» » » » »	−5,7° »
» 3,	»	» 20/II,	52,5 »	» = 0,31 »	5	» » » » »	−2,6° »
» 4,	8.VII.	» 20/I,	59,8 »	» = 0,19 »	1826	» » » » »	−3,0° »
» 5,	»	» 26/I,	60,4 »	» = 0,19 »	215	» » » » »	−1,9° »
» 7,	13.VII.	» 20/II,	52,5 »	» = 0,52 »	1128	» » » » »	−2,0° »
» 8,	»	» 17/I,	65,3 »	» = 0,36 »	3635	» » » » »	−3,4° »
» 14,	20.VII.	» 20/0,	59,8 »	» = 0,22 »	14	» » » » »	−1,0° »
» 15,	»	» 20/II,	52,5 »	» = 0,34 »	1160	» » » » »	−0,5° »
» 16,	»	» 26/0,	57,4 »	» = 0,25 »	—	» » » » »	−1,0° »
» 17,	21.VII.	» 20/0,	59,8 »	» = 0,27 »	106	» » » » »	−2,8° »
» 18,	»	» 20/II,	52,5 »	» = 0,44 »	1172	» » » » »	−0,6° »
» 19,	»	» 26/0,	57,4 »	» = 0,36 »	—	» » » » »	−0,9° »
		Mittel:	57,5 cbm,	E = **0,29** bei	845	m/St.W.v.F. u.	−2,4° Diff.

2. Sedanstrafse.

Versuch 6,	8.VII.	Nr. 22/I,	66,0 cbm,	E = 0,39 bei	1221	m/St.W.v.F. u.	−3,0° Diff.
» 9,	13.VII.	» 22/II,	59,0 »	» = 0,71 »	1059	» » » » »	−2,4° »
» 10,	14.VII.	» 22/0,	65,5 »	» = 0,65 »	576	» » » » »	−5,1° »
» 21,	22.VII.	» 22/I,	66,0 »	» = 0,56 »	365	» » » » »	−0,8° »
		Mittel:	64,1 cbm,	E = **0,58** bei	805	m/St.W.v.F. u.	−2,8° Diff.

Die Häuser in der Genossenschaftstrafse ergaben also einen Lüftungskoeffizienten von 0,29 im Mittel. Das Genossenschaftshaus in der Sedanstrafse, welches ich untersuchte, ist anscheinend ganz ebenso gebaut und liegt ganz ebenso, ich hatte daher die gleiche Lüftungsgröfse erwartet. Trotzdem erhielt ich immer und immer wieder höhere Werte, im Mittel sogar 0,58, was zufällig genau **doppelt so viel** als in ersterer Strafse ausmacht, und war sehr überrascht hierüber, bis ich schliefslich in einwandfreier Weise feststellen konnte, dafs beim Bau der Genossen-

schaftshäuser in der Sedanstrafse ein minder hart gebrannter Backstein vermauert worden war.

Da die übrigen Verhältnisse, wie es nach der Zusammenstellung den Anschein gewinnt, so gut wie gleich waren, so ist es nicht unwahrscheinlich, dafs das Genossenschaftshaus Sedanstrafse Nr. 22 den gröfsten Teil seiner besseren Lüftung der Verwendung des schlechteren, d. h. weniger festen Baumaterials verdankte.

Wenn nun beim Bau von Sedanstrafse Nr. 4 vielleicht noch schärfer gebrannter Backstein wiederum als in der Genossenschaftstrafse genommen wurde, so könnte die geringere Lüftungsgröfse der Hofwohnungen (0,19 gegen 0,29 und 0,35), sollte man denken, im wesentlichen hierdurch veranlafst gewesen sein. Nach den eingezogenen Erkundigungen ist jedoch zu vermuten, dafs die Bausteine hier nicht noch härter, sondern im Gegenteil eher erheblich weniger fest waren. Vielleicht ist also doch das Verhältnis, welches sich aus dem Vergleich der Übersichten I und II ergibt, nicht ganz unzutreffend.

Der Vorteil, welchen eine landhausmäfsige Bebauung in Hinsicht auf die Selbstlüftung der Wohnräume vor der geschlossenen Bauweise voraushaben mufs, läfst sich immerhin, falls man nur beiderseits eine genügend grofse Anzahl von Objekten zum Vergleich stellen kann, auch ohne Kenntnis der Art des Baumaterials erschliefsen. Am besten würden die zu vergleichenden Reihenhäuser und Hofgebäude in Berlin selbst gesucht. Und man könnte etwa darauf hinausgehen, für die Berliner Wohnungen diejenige Temperaturdifferenz, bei winterlicher Heizung der Räume, zu finden, welche dieselbe Wirkung hat wie das Freistehen der Adlershofer Einzelhäuser bei der geringen, sozusagen fehlenden Temperaturdifferenz im Hochsommer.

Die Versuche, welche ich im Februar 1899 an eingebauten Berliner Wohnungen angestellt habe[1]), können hier zum Vergleich dienen.

1) Über die Gröfse des Selbstlüftungs-Koeffizienten kleiner Wohnräume. Archiv f. Hygiene, Bd. 36, S. 220—234.

Für die stündliche Lufterneuerung E erhielt ich:

$E = 0{,}35$	in Adlershof	aus 17	Versuchen bei	2,5° Temp.-Diff.
$E = 0{,}31$	» Berlin	» 18	»	» 12,5° »

Demnach hatten die Adlershofer Wohnungen bei einer um 10° kleineren Temperaturdifferenz immer noch besser gelüftet als die Berliner Wohnungen.

Die Adlershofer Wohnungen lüften also im Sommer ebensogut wie vielfach die Berliner Wohnungen während des Winters. Und es läfst sich wohl der Schlufs ziehen:

Eine landhausmäfsige Bebauung wiegt reichlich 10° Temperaturdifferenz auf.

Die Wirkung des Eingebautseins der Wohnung äufsert sich natürlich im Vorderzimmer weniger als im Hofzimmer; trenne ich nach dieser Richtung, so ergeben die Berliner Versuche sogar nur:

$E = 0{,}23$ bei 12,5° Temperaturdifferenz für Hofzimmer
$E = 0{,}35$ » 12,5° » » Vorderzimmer.

Während daher das Vorderzimmer bei geschlossener Bauweise für 12,5° Temperaturdifferenz und das Zimmer des Einzelhauses für 2,5° Temperaturdifferenz die gleiche Lüftungsgröfse von 0,35 für die Stunde zeigen, tritt das Hofzimmer der Grofsstadt mit 0,23maliger stündlicher Lüftung für 12,5° Temperaturdifferenz, noch ganz erheblich mehr hinter das Einzelhaus zurück.

An der höheren Lüftungsgröfse bei landhausmäfsiger Bebauung dürften gegenüber der geschlossenen Bauweise des Zentrums der Grofsstadt im wesentlichen zwei Umstände beteiligt sein:

1. Die geringere Stärke der Mauern[1])
2. » gröfsere » » Luftbewegung.

1) In Berlin bestehen folgende Mindestanforderungen an die Stärke der Umfassungsmauern; stärkere werden daher nirgends aufgeführt.

IV Obergeschofs	38 cm	= 1½ Stein	+ 1 cm Kalkfuge
III »	38 »	= 1½ »	+ 1 » »
II »	51 »	= 2 »	+ 1 » »

(Forts. s. nächste Seite.)

Wenn man daher ein freistehendes Haus bei Windstille und bei Wind beobachtet, so läfst sich etwa die Ventilationsleistung bei Windstille dem gewöhnlichen Verhalten des eingebauten Hauses gleichsetzen unter der Voraussetzung einer gleichen Stärke der Umfassungsmauern. Da aber in der Praxis diese bei geschlossener Bauweise stärker zu sein pflegen, indem es sich um höhere Häuser handelt als bei landhausmäfsiger Bebauung, so ist der Vorteil, den letztere bietet, entschieden noch gröfser, als ihn diese Betrachtung ergibt.

Aus einem Vergleich der Versuche Nr. 1—3 mit Nr. 14—19 ergeben sich folgende Mittelzahlen für annähernde Windstille, d. i. im Mittel 22 m am 7. Juli, bzw. für Wind, d. i. im Mittel 609 m am 20.—21. Juli Windgeschwindigkeit pro Stunde vor dem Fenster.

Genossenschaftstrafse 20/0, 20/II und 26/0,
Mittelzahlen.

Windstille	$E = $ **0,21**	für 56,6 cbm	bei — 4,7°	Temp.-Diff.
Wind . .	$E = $ **0,32**	» 56,6 »	» — 1,1°	» »

Hiernach würde das Einzelhaus in seinem Verhalten für Wind gegenüber Windstille im Verhältnis von 0,32 : 0,21 besser dastehen, und man könnte sagen:

Bei landhausmäfsiger Bebauung ist die natürliche Ventilation der Wohnräume gegenüber der geschlossenen Bauweise mindestens um die Hälfte gesteigert.

Gut vergleichbare Einzelzahlen für E (die stündliche Lufterneuerung) sind aus Übersicht I besonders die folgenden, welche den Einflufs des Windes veranschaulichen.

1. Genossenschaftstrafse 20, Parterre.

Versuch 2,	7.VII.	$E = 0{,}16$	bei 2 m/St. W. v. F.	(— üh. Dach) 5002	u. — 5,7°	Diff.
» 14,	20. »	» $= 0{,}22$	» 14 »	» » » 5002 »	» » — 1,0°	»
» 17,	21. »	» $= 0{,}27$	» 106 »	» » » 7467 »	» » — 2,8°	»

I Obergeschofs . 51 cm = 2 Stein + 1 cm Kalkfuge

Erdgeschofs . . 64 » = 2½ » + 2 » Kalkfugen

Keller . . . . 77 » = 3 » + 2 » »

Fundament . . . 90 » = 3½ » + 3 » »

Ein Backstein ist 25 cm lang und 12 cm breit.

2. Ebenda, zweite Etage.

Vers. 3,	7.VII.	$E = 0,31$	bei 5 m/St.	W. v. F.	(—	üb. Dach)	n.	— 2,6°	Diff.
» 7,	13. »	» = 0,52	» 1128	» » »	—	»	»	» — 2,0°	»
» 15,	20. »	» = 0,34	» 1160	» » »	5002	»	»	» — 0,5°	»
» 18,	21. »	» = 0,44	» 1172	» » »	7467	»	»	» — 0,6°	»

woraus als Mittel für die drei windigen Tage 13. VII., 20. VII. und 21. VII.: $E = 0,43$ bei 1153 m/St. Wind vor Fenster und — 1,0° Diff.

3. Genossenschaftstrafse 26, Parterre.

Versuch 1,	7.VII.	$E = 0,17$	bei 59 m/St.	W. v. F.	(—	üb. Dach)	n.	— 5,7°	Diff.
» 16,	20. »	» = 0,25	» —	» » »	5002	»	»	» — 1,0°	»
» 19,	21. »	» = 0,36	» —	» » »	7467	»	»	» — 0,9°	»

Also auch in den einzelnen Versuchen tritt die Wirkung des Windes auf die Ventilation deutlichst zutage. Mit der steigenden Windzahl wird regelmäfsig ein höherer Lüftungswert gefunden, und hierbei ist die Wirkung des Windes so bedeutend, dafs, im Sommer wenigstens, alle anderen Unterschiede, wie besonders eine Verschiedenheit der Temperaturdifferenzen zwischen den Zimmern und dem Freien, ganz in den Hintergrund treten und verwischt werden.

Das Zimmer im Reihenhaus kann in der Regel nur eine Aufsenwand aufweisen, jenes im freistehenden Hause mehrere. Demnach wird zu erwarten sein, dafs ein Vorzug der landhausmäfsigen Bebauung auch aus einer Zusammenstellung der Lüftungswerte nach der Zahl der Aufsenwände abzuleiten sei. Die nachstehenden Zahlen beziehen sich ausschliefslich auf gleichbeschaffene Genossenschaftshäuser.

Die Resultate nach der Zahl der Aufsenwände.

1 Aufsenwand, G.-Str. Nr. 26/0,	$E = 0,17$	am	7. Juli			
	$= 0,25$	»	20. »	0,26		
	$= 0,36$	»	21. »		0,22	
1 » » » 26/I,	$E = 0,19$	»	8. »	0,19		
$1^1/_2$ Aufsenwand, G.-Str. Nr. 17/I,	$E = 6,36$	am	13. Juli	. .		0,36

2 Aufsenwände, G.-Str. Nr. 20/0,	$E = 0{,}16$	am 7. Juli	0,23	0,21
	$= 0{,}22$	» 20. »		
	$= 0{,}27$	» 21. »		
2 » » » 20/I,	$E = 0{,}19$	» 8. »	0,19	
3 Aufsenwände, G.-Str. Nr. 20/II,	$E = 0{,}31$	am 7. Juli	. .	0,40
	$= 0{,}52$	» 13. »		
	$= 0{,}34$	» 20. »		
	$= 0{,}44$	» 21. »		

G.-Str. Nr. 17/I ($1\frac{1}{2}$ Aufsenwand) sowie G.-Str. Nr. 20/0 und 20/I (2 Aufsenwände) weisen allein unter allen untersuchten Räumen Doppelfenster auf.

G.-St. Nr. 26/0 ist allein nicht tapeziert, sondern schabloniert. G.-Str. Nr. 17 und 26 sind allein nicht verputzt.

Die Zusammenstellung zeigt vier Gruppen:

1. Eine Aufsenwand . . . mit $E = 0{,}22$
2. Anderthalb Aufsenwände mit $E = 0{,}36$
3. Zwei Aufsenwände . . . mit $E = 0{,}21$
4. Drei Aufsenwände . . . mit $E = 0{,}40$.

Die Lüftungsgröfse stieg also, wie erwartet, im allgemeinen mit der Zahl der Aufsenwände. Das Zurückbleiben des Lüftungswertes der dritten Gruppe mag im wesentlichen auf den Verputz und die Doppelfenster des betreffenden Hauses zurückzuführen sein. Übrigens handelt es sich in dreien von vier Versuchen der ersten Gruppe ausnahmsweise um ein nicht tapeziertes Zimmer, durch welchen Umstand das Mittel der Lüftungsgröfse für die erste Gruppe zu hoch ausfallen konnte.

Vergleicht man die Resultate nach Stockwerken, so steht zu erwarten, dafs das Erdgeschofs bei der Lüftung am schlechtesten und das oberste Geschofs weitaus am besten wegkommen werden.

Wie die folgende Zusammenstellung belegt, ist dieses für die Mittelwerte in der Tat der Fall. Denn:

1. Im Parterre war $E = 0{,}30$
2. » I. Stock » $E = 0{,}34$
3. » II. Stock » $E = 0{,}46$.

Vergleich nach Stockwerken.

a) Erdgescbofs. (Erstes Wobngescbofs.)

Vers.											
1,	7.VII.	G.-Str.	26/0,	57,4 cbm,	$E=0,17$	bei	59	m/St. W. v. F. u.		$-5,7^{\circ}$	Diff.
2,	7. »	»	20/0,	59,8 »	» $=0,16$	»	2	»	» » » »	$-5,7^{\circ}$	»
10,	14. »	S.-Str.	22/0,	65,5 »	» $=0,65$	»	576	»	» » » »	$-5,1^{\circ}$	»
14,	20. »	G.-Str.	20/0,	59,8 »	» $=0,22$	»	14	»	» » » »	$-1,0^{\circ}$	»
16,	20. »	»	26/0,	57,4 »	» $=0,25$	»	—	»	» » » »	$-1,0^{\circ}$	»
17,	21. »	»	20/0,	59,8 »	» $=0,27$	»	106	»	» » » »	$-2,8^{\circ}$	»
19,	21. »	»	26/0,	57,4 »	» $=0,36$	»	—	»	» » » »	$-0,9^{\circ}$	»

Mittel: 59,6 cbm, $E=0,30$ bei 150 m/St. W. v. F. u. $-3,2^{\circ}$ Diff.

b) Erstes Obergescbofs. (Zweites Wobngescbofs.)

Vers.											
4,	8.VII.	G.-Str.	20/I,	59,8 cbm,	$E=0,19$	bei	1826	m/St. W. v. F. u.		$-3,0^{\circ}$	Diff.
5,	8. »	»	26/I,	60,4 »	» $=0,19$	»	215	»	» » » »	$-1,9^{\circ}$	»
6,	8. »	S.-Str.	22/I,	66,0 »	» $=0,39$	»	1221	»	» » » »	$-3,0^{\circ}$	»
8,	13. »	G.-Str.	17/I,	65,3 »	» $=0,36$	»	3635	»	» » » »	$-3,4^{\circ}$	»
21,	22. »	S.-Str.	22/I,	66,0 »	» $=0,56$	»	365	»	» » » »	$-0,8^{\circ}$	»

Mittel: 63,5 cbm, $E=0,34$ bei 1450 m/St. W. v. F. u. $-2,4^{\circ}$ Diff.

c) Zweites Obergeschofs. (Drittes Wobngescbofs.)

Vers.											
3,	7.VII.	G.-Str.	20/II,	52,5 cbm,	$E=0,31$	bei	5	m/St. W. v. F. u.		$-2,6^{\circ}$	Diff.
7,	13. »	»	20/II,	52,5 »	» $=0,52$	»	1128	»	» » » »	$-2,0^{\circ}$	»
9,	13. »	S.-Str.	22/II,	59,0 »	» $=0,71$	»	1059	»	» » » »	$-2,4^{\circ}$	»
15,	20. »	G.-Str.	20/II,	52,5 »	» $=0,34$	»	1160	»	» » » »	$-0,5^{\circ}$	»
18,	21. »	»	20/II,	52,5 »	» $=0,44$	»	1172	»	» » » »	$-0,6^{\circ}$	»

Mittel: 53,8 cbm, $E=0,46$ bei 900 m/St. W. v. F. u. $-1,6^{\circ}$ Diff

Die Lufttemperaturen im Freien und im Zimmer.

a) Erdgeschofs.

Versuch	1,	im Freien	$25,7^{\circ}$.	Im Zimmer nur	$20,0^{\circ}$	oder	um $5,7^{\circ}$	kälter
»	2, »	»	$25,7^{\circ}$.	» » »	$20,0^{\circ}$	»	» $5,7^{\circ}$	»
»	10, »	»	$27,2^{\circ}$.	» » »	$22,1^{\circ}$	»	» $5,1^{\circ}$	»
»	14, »	»	$20,5^{\circ}$.	» » »	$19,5^{\circ}$	»	» $1,0^{\circ}$	»
»	16, »	»	$20,5^{\circ}$.	» » »	$19,5^{\circ}$	»	» $1,0^{\circ}$	»
»	17, »	»	$22,3^{\circ}$.	» » »	$19,5^{\circ}$	»	» $2,8^{\circ}$	»
»	19, »	»	$22,3^{\circ}$.	» » »	$21,4^{\circ}$	»	» $0,9^{\circ}$	»

Mittel: Im Freien $23,5^{\circ}$. Im Zimmer nur $20,3^{\circ}$ oder um $3,2^{\circ}$ kälter.

b) Erstes Obergeschofs.

Versuch	4,	im Freien	$25,8^{\circ}$.	Im Zimmer nur	$22,8^{\circ}$	oder	um $3,0^{\circ}$	kälter
»	5, »	»	$25,8^{\circ}$.	» » »	$23,9^{\circ}$	»	» $1,9^{\circ}$	»
»	6, »	»	$25,8^{\circ}$.	» » »	$22,8^{\circ}$	»	» $3,0^{\circ}$	»
»	8, »	»	$25,0^{\circ}$.	» » »	$21,6^{\circ}$	»	» $3,4^{\circ}$	»
»	21, »	»	$23,3^{\circ}$.	» » »	$22,5^{\circ}$	»	» $0,8^{\circ}$	»

Mittel: Im Freien $25,1^{\circ}$. Im Zimmer nur $22,7^{\circ}$ oder um $2,4^{\circ}$ kälter.

c) Zweites Obergeschofs.

Versuch	3,	im	Freien	25,7°.	Im	Zimmer	nur	23,1°	oder	nm	2,6° kälter
»	7,	»	»	25,0°.	»	»	»	23,0°	»	»	2,0° »
»	9,	»	»	25,0°.	»	»	»	22,2°	»	»	2,8° »
»	15,	»	»	20,5°.	»	»	»	20,0°	»	»	0,5° »
»	18,	»	»	22,3°.	»	»	»	21,7°	»	»	0,6° »

Mittel: Im Freien 23,6°. Im Zimmer nur 22,0° oder um 1,6° kälter.

Rechnet man die vorstehenden Mittelzahlen auf eine einheitliche Aufsentemperatur um, so gewinnt man die nachstehende Übersicht:

Erdgeschofs. Im Freien 23,5°. Im Zimmer 20,3°, oder um 3,2° kälter.

I. Etage. Im Freien 23,5°. Im Zimmer 21,1°, oder um 2,4° kälter.

II. Etage. Im Freien 23,5°. Im Zimmer 21,9°, oder um 1,6° kälter.

Zweitens zeigt ein Vergleich der Stockwerke somit, dafs der Temperaturschutz der Wohnung nach oben hin gesetzmäfsig abnimmt, und zwar für jedes Geschofs um 0,8°.

Selbstlüftung und Temperaturschutz der Wohnungen stehen also im umgekehrten Verhältnis.

Wenn man übrigens die einzelnen Zimmer, soweit solche übereinander lagen, miteinander vergleicht, so wird — wegen der ungleichen Zahl von Versuchen in den einzelnen Etagen — der Unterschied nach Stockwerken weniger gesetzmäfsig, als er sich in den obigen Mittelwerten ausprägt, zu erwarten sein.

Zimmer übereinander.

1. Genossenschaftstrafse 20.

Parterre, $E = (0{,}16 + 0{,}22 + 0{,}27) : 3 =$. 0,23 bei 40 m/St. W. v. F. (—3,2°)
I Treppe, $E =$ . . . . 0,19 » 1826 » » » » (—3,0°)
II Treppen, $E = (0{,}31 + 0{,}52 + 0{,}34 + 0{,}44) : 4 = 0{,}40$ » 1155 » » » » (—1,4°)

2. Genossenschaftstrafse 26.

Parterre, $E = (0{,}17 + 0{,}25 + 0{,}36) : 3 =$. 0,26 bei 59? m/St. W. v. F. (—3,5°)
I Treppe, $E =$ . . . . 0,19 » 215 » » » » (—1,9°)

3. Sedanstrafse 22.

Parterre,	$E =$	0,65 bei 576 m/St. W. v. F.	(—5,1°)
I Treppe,	$E = (0{,}56 + 0{,}39) : 2 =$ . . .	0,48 » 763 » » » »	(—2,4°)
II Treppen,	$E =$	0,71 » 1059 » » » »	(—1,9°)

Immerhin zeigt sich auch hier ein ähnliches Verhalten nach beiden Richtungen. Je tiefer das Zimmer gelegen, desto kühler bleibt es auch an heifsen Tagen, und desto gröfser wird dann der Temperaturunterschied gegenüber dem Freien. Die Lüftungsgröfse ist dagegen im Erdgeschofs erheblich kleiner als in der obersten Etage. Auffällig ist der anscheinende Abfall von Parterre nach erster Etage; in Nr. 26 kann der Mangel der Tapete im Parterrezimmer hieran schuld sein; was in den beiden anderen Fällen, vermag ich nicht sicher zu ergründen; doch ist die Vermutung berechtigt, dafs Zufälligkeiten[1]) die Ursache sein dürften, da sich ja aus der vorausgehenden Übersicht der Mittelwerte ein durchaus ununterbrochener Anstieg der Lüftungsgröfse von unten nach oben, von Etage zu Etage ergeben hatte.

Die Temperaturdifferenz zwischen dem Zimmer und dem Freien scheint im Hochsommer eine untergeordnete Rolle bei der Lüftung zu spielen. Nirgends in den Versuchen läfst sich klar ersehen, dafs der gröfseren Temperaturdifferenz auch die gröfsere Lüftung entspreche. In mehreren Fällen gehen gröfsere Temperaturdifferenzen und geringere Lüftungsgröfsen unter anscheinend im übrigen gleichen Bedingungen zusammen. Dies könnte daran liegen, dafs die Temperaturdifferenzen, welche im allgemeinen um $2^1/_2{}^0$ schwanken, an sich so geringfügig sind, dafs irgend eine Zufälligkeit, die der Beobachtung sich entzieht, genügt, die Wirkung zu verwischen.

Möglicherweise wird in den oberen Etagen, besonders im obersten Geschofs, der heifse Dachraum, auf dessen Bedeckung die Sonne brennt, als Lockkamin wirksam. Hier-

1) Etwa ein Offenstehen der Haustür, wodurch bei einblasendem Wind ein Flurzimmer im Erdgeschofs besser lüftet; aber die Wirkung braucht nicht bis in die erste Etage überzugreifen.

durch könnte recht wohl eine geringere Temperaturdifferenz überkompensiert werden.

Noch einige Einzelwerte dürften einem besonderen Interesse begegnen.

Das »Berliner Zimmer« (Versuch Nr. 12 und 23) wies eine ausnehmend geringe stündliche Lufterneuerung auf, nämlich nur:

E = 0,13 bei 40 m/St. Wind vor Fenster (= Windstille)
= 0,20 » 1325 » » » »

Diese geringe Lüftung des Berliner Zimmers mufs wohl ihren Grund in der dem Zimmer eigentümlichen halben Aufsenwand haben.

Dafs die Turnhalle, obwohl völlig freistehend, bei lebhaftem Wind nur 0,12 mal in der Stunde lüftete, dürfte auf den grofsen Rauminhalt von mehr als 1400 cbm zurückzuführen sein. Denn grofse Räume haben verhältnismäfsig weniger lüftende Oberflächen als kleinere.[1])

Die Schlüsse, welche ich aus den vorstehenden Darlegungen ziehen möchte, sind folgende, insoweit sie das Thema der Arbeit unmittelbar berühren.

Schlüsse.

1. Bei landhausmäfsiger Bebauung ist die sommerliche natürliche Ventilation der Wohnräume um reichlich die Hälfte gesteigert.

2. Bei landhausmäfsiger Bebauung ventilieren die Wohnungen im Sommer ebensogut wie vielfach die eingebauten Wohnungen der Grofsstadt (Berlin) erst unter dem Einflufs der Heizung im Winter.

3. Durch eine landhausmäfsige Bebauung wird, im Hinblick auf die Erhöhung der Lüftungsgröfse, eine Temperaturdifferenz von mehr als 10° aufgewogen.

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 36, S. 225.

(Folgt Generaltabelle S. 66—69.)

Generaltabelle, Abteilung I.

Versuch Nr	Raum Nr.	Tag Nr.	Datum, Juli 1904	Inhaber der Wohnung	Strafse	Haus-Nr.	Etage	Himmelsrichtung der Fensterwand	Himmelsrichtung der anderen Aufsenwände
1	I(a)	1	Do 7	Schnell	Genossenschaft	26	0	NO.	—
2	2(a)	1	»	Prödel	»	20	0	»	SO.
3	3(a)	1	»	Steinert	»	20	II	»	SO. NW.
4	4	2	Fr 8	»	»	20	I	»	SO.
5	5	2	»	Abrock	»	26	I	»	»
6	6(a)	2	»	Reinhold	Sedan	22	I	»	—
7	3(b)	3	Mi 13	Steinert	Genossenschaft	20	II	»	SO. NW.
8	7	3	»	Müller	»	17	I	»	NW.
9	8	3	»	Mälzer	Sedan	22	II	»	—
10	9	4	Do 14	»	»	22	0	»	—
11	10(a)	4	»	Köhler	»	4 Sfl.	I	SO.	NO.
12 [1]	11(a)	4	»	»	»	4 Sfl.	II	»	—
13	12	4—6	14—16	Gemeinde (Turnhalle)	—	—	0	NW. SO.	SW. NO.
14	2(b)	7	Mi 20	Prödel	Genossenschaft	20	0	NO.	SO.
15	3(c)	7	»	Steinert	»	20	II	»	SO. NW.
16	I(b)	7	»	Schnell	»	26	0	»	—
17	2(c)	8	Do 21	Prödel	»	20	0	»	SO.
18	3(d)	8	»	Steinert	»	20	II	»	SO. NW.
19	I(c)	8	»	Schnell	»	26	0	»	—
20	13(a)	8	»	Gemeinde (Schule)	Bismarck	—	0	SO.	—
21	6(b)	9	Fr 22	Reinhold	Sedan	22	I	NO.	—
22	10(b)	9	»	Köhler	»	4 Sfl.	I	SO.	NO.
23 [1]	11(b)	9	»	»	»	4 Sfl.	II	»	—
24	13(b)	9	»	Gemeinde (Schule)	Bismarck	—	0	»	—
25	14	10	Di 26	Köhler	Sedan	4	I	»	—

1) Berliner Zimmer.

Generaltabelle, Abteilung 11.

Raum Nr.	Bau-material	Wand-bekleidung	Türen	Fenster	Doppel-fenster	Größe des Raumes	Breite, Tiefe, Höhe	Außen-wände	Flur-wände
1 (Schnell)	Backsteine, unverputzt, I. Qualität	Schabloniert	2	2	Nein	57,4	4,97 4,20 2,75	1	1
2 (Prödel)	Backsteine, verputzt, I. Qualität	Tapeten	2	2	Ja	59,8	4,25 1,85 2,90	2	1
3 (Steinert)	Backsteine, verputzt, I. Qualität	„	1	2	Nein	52,5	4,20 5,10 2,45	3	1
4 „	Backsteine, verputzt, I. Qualität	„	2	2	Ja	59,8	4,25 4,85 2,90	2	1
5 (Abröck)	Backsteine, unverputzt, I. Qualität	„	2	2	Nein	60,4	4,97 4,15 2,95	1	1
6 (Reinhold)	Backsteine, verputzt, II. Qualität	„	2	2	„	66,0	4,00 5,50 3,00	1	1
7 (Müller)	Backsteine, unverputzt, I. Qualität	„	2	2	Ja	65,3	5,03 4,37 2,97	1½	½
8 (Mälzer)	Backsteine, verputzt, II. Qualität	„	2	2	Nein	59,0	3,75 5,52 2,85	1	1
9 „	Backsteine, verputzt, II. Qualität	„	2	2	„	65,5	3,97 5,50 3,00	1	1
10 (Köhler)	Backsteine, verputzt	„	1	2	„	65,1	4,90 4,15 3,20	2	0
11 „ [1]	Backsteine, verputzt	„	1	1	„	84,5	6,60 4,40 3,22	½	0
12 (Turnhalle)	Backsteine, unverputzt	Gestrichen (Leimfarbe)	1	7	„	1408,0	22,00 10,40 6,04	4	0
13 (Schule)	Backsteine, verputzt	Gestrichen (Wasserfarbe)	1	4	„	175,0	9,00 5,80 3,35	1	1
14 (Köhler)	Backsteine, verputzt	Tapeten	1	1	„	29,0	2,45 3,70 3,20	1	0

1) Berliner Zimmer.

Generaltabelle, Abteilung III.

Versuch Nr.	Raum Nr.	Dauer des Versuchs	Temperatur im Zimmer	Temperatur im Freien	Im Zimmer kälter (—), oder wärmer (+)	Wind/Stunde vor Fenster	Wind/Stunde über Dach	Richtung des Windes
						m	m	
1	1 (a)	4 St. 45 Min.	20,0	25,7	— 5,7	59	—	NW.
2	2 (a)	3 » 55 »	20,0	25,7	— 5,7	2	—	»
3	3 (a)	3 » 40 »	23,1	25,7	— 2,6	5	—	»
4	4	4 » 03 »	22,8	25,8	— 3,0	1826	—	»
5	5	3 » 31 »	23,9	25,8	— 1,9	215	—	»
6	6 (a)	3 » 11 »	22,8	25,8	— 3,0	1221	—	»
7	3 (b)	5 » 06 »	23,0	25,0	— 2,0	1128	—	Ost
8	7	4 » 48 »	21,6	25,0	— 3,4	3635	—	»
9	8	4 » 29 »	22,2	25,0	— 2,8	1059	—	»
10	9	4 » 37 »	22,1	27,2	— 5,1	576	—	SO.
11	10 (a)	4 » 09 »	26,8	27,2	— 0,4	908	—	»
12 [1])	11 (a)	3 » 49 »	24,3	27,2	— 2,9	1325	—	»
13 a	12 (a)	16 » — »	25,0	24,0	+ 1,0	—	5400	»
13 b	12 (b)	8 » — »	27,0	31,0	— 4,0	—	5850	West
13 c	12 (c)	17 » — »	—	—	—	—	2320	—
14	2 (b)	3 » 17 »	19,5	20,5	— 1,0	14	5002	Nord
15	3 (c)	2 » 55 »	20,0	20,5	— 0,5	1160	5002	»
16	1 (b)	2 » 55 »	19,5	20,5	— 1,0	—	5002	»
17	2 (c)	4 » 22 »	19,5	22,3	— 2,8	106	7467	West
18	3 (d)	4 » 17 »	21,7	22,3	— 0,6	1172	7467	»
19	1 (c)	4 » 20 »	21,4	22,3	— 0,9	—	7467	»
20	13 (a)	3 » 55 »	19,0	22,3	— 3,3	—	7467	»
21	6 (b)	4 » 45 »	22,5	23,3	— 0,8	365	5070	»
22	10 (b)	4 » 40 »	26,3	23,3	+ 3,0	25	5070	»
23 [1])	11 (b)	4 » 34 »	22,3	23,3	— 1,0	40	5070	»
24	13 (b)	3 » 41 »	19,7	23,3	— 3,6	—	5070	SW.
25	14	4 » 33 »	27,5	22,0	+ 5,5	—	5365	West

Generaltabelle, Abteilung IV.

Vers. Nr.	Raum Nr.	K_1	K_2	E/St.	Wirkung des Windes
		‰	‰		
1	1(a)	10,1	4,8	0,17	Sehr schwacher Wind sog direkt an Auſsenwand.
2	2(a)	7,5	3,9	0,16	Sehr schwacher Wind sog direkt an Fensterwand, indirekt an der andern Auſsenwand.
3	3(a)	7,6	2,7	0,31	Sehr schwacher Wind sog direkt an Fensterwand, sog indirekt an zweiter Auſsenwand, drückte senkrecht auf dritte Auſsenwand.

1) Berliner Zimmer.

Fortsetzung zu Ahteilung IV.

Vers. Nr.	Raum Nr.	K_1	K_2	E/St.	Wirkung des Windes
		‰	‰		
4	4	10,1	4,8	0,19	Wind sog direkt an Fensterwand, indirekt an zweiter Aufsenwand.
5	5	10,7	5,7	0,19	Wind sog direkt an Fensterwand, indirekt an zweiter Aufsenwand.
6	6 (a)	10,9	3,4	0,39	Wind sog direkt an Aufsenwand.
7	3 (b)	8,01	0,95	0,52	Wind drückte seitlich auf die Fensterwand und eine zweite Aufsenwand, sog indirekt an dritter Anfsenwand.
8	7	7,91	1,73	0,36	Wind drückte auf Fensterwand, sog indirekt an zweiter Aufsenwand.
9	8	9,48	0,78	0,71	Wind drückte auf Aufsenwand.
10	9	14,01	1,09	0,65	Wind sog direkt an Aufsenwand.
11	10 (a)	7,22	2,70	0,26	Wind drückte senkrecht auf die Fensterwand, sog direkt an der zweiten Aufsenwand.
12[1]	11 (a)	5,03	2,59	0,20	Wind drückte senkrecht auf die Aufsenwand.
13 a	12 (a)	8,28	1,36	0,13	Wind drückte senkrecht auf hintere Längswand und sog im übrigen.
13 b	12 (b)	1,36	0,81	0,11	Wind prefste seitlich auf vordere Längswand und sog im übrigen.
13 c	12 (c)	0,81	0,73	—	—
14	2 (b)	4,64	2,49	0,22	Wind drückte seitlich auf die Fensterwand und sog indirekt an zweiter Anfsenwand.
15	3 (c)	21,61	8,19	0,34	Wind drückte seitlich auf Fensterwand und auf zweite Aufsenwand, sog indirekt an dritter Aufsenwand.
16	1 (b)	6,31	3,27	0,25	Wind drückte seitlich anf Aufsenwand.
17	2 (c)	7,01	2,42	0,27	Wind sog indirekt an Fensterwand, ebenso an zweiter Aufsenwand.
18	3 (d)	8,23	1,61	0,44	Wind sog indirekt an Fensterwand nnd zweiter Aufsenwand, prefste seitlich auf dritte Aufsenwand.
19	1 (c)	7,79	1,96	0,36	Wind sog indirekt an Aufsenwand.
20	13 (a)	6,02	1,90	0,37	Wind sog indirekt an Aufsenwand.
21	6 (b)	8,94	1,00	0,56	Wind sog indirekt an Aufsenwand.
22	10 (b)	12,92	6,32	0,16	Sehr schwacher Wind sog indirekt an Fensterwand und zweiter Aufsenwand.
23[1]	11 (b)	17,06	9,40	0,13	Sehr schwacher Wind sog indirekt an Anfsenwand.
24	13 (b)	5,71	2,42	0,26	Sehr schwacher Wind sog direkt an Aufsenwand.
25	14	16,9	6,93	0,20	Wind sog indirekt an Anfsenwand.

1) Berliner Zimmer.

Die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen dem Bacillus faecalis alkaligenes und dem Typhusbazillus.

Von

Dr. med. **A. Doebert.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Der Bacillus faecalis alkaligenes wurde 1889 von Petruschky[1]) aus verdorbenem Bier gezüchtet und in seinen Kulturmerkmalen beschrieben, die bis auf das Wachstum in Lakmusmolke und auf der Kartoffel durchaus typhusähnlich wareu. 1896 stellte Petruschky[2]) noch einmal die dem Alkaligenes mit dem Typhusbazillus gemeinsamen und die von ihm verschiedenen Merkmale fest, da er ihn jetzt häufiger im Stuhle typhusverdächtiger Patienten und in Stühlen neben dem Typhusbazillus gefunden hatte, und betonte als sichere Unterscheidungen 1. die Alkalibilduug in Lakmusmolke, 2. die Nichtbeeinflussung durch Typhus-Immunserum und 3. die Bräunuug der Kartoffel. Kürzlich erhob nun Altschüler[3]) bei einem Typhusfall in Strafsburg folgenden merkwürdigen Befund. Das Krankenserum agglutinierte Paratyphusbazillen Typus A in einer Verdünnung von 1 : 250, Typus B und Typhusbazillen gar nicht, aus dem Blute züchtete er intra vitam Typhusbazillen in Reinkultur, die Sektion ergab den typischen Befund des Typhus

1) Zentralbl. f. Bakt., 1889, Bd. VI.
2) Zentralbl. f. Bakt., 1896, Bd. XIX.
3) Münchner med. Wochenschr., 1904, Nr. 20.

abdominalis und die bakteriologische Untersuchung der Milz den Bacillus faecalis alkaligenes in Reinkultur. Daraufhin versuchte er — durch wochenlange Züchtung auf menschlicher Placenta —, dem Alkaligenes die oben als Unterschiede bezeichneten Eigenschaften zu nehmen, und es gelang ihm, »einen Bacillus faecalis alkaligenes so zu verändern, dafs er in seinem biologischen Verhalten vom Typhusbazillus nicht abwich.« Auch die Agglutinationsprobe und der Pfeiffersche Versuch bestätigten das. Gleichzeitig machte er denselben Versuch mit einem Typhusstamm, und es gelang ihm auch hier, »einen Typhusbazillus derart umzuwandeln, dafs er dem als Bacillus faecalis alkaligenes beschriebenen Bazillus in seinen Eigenschaften völlig gleichkam.« Allerdings macht er hier keine Angaben über die Reaktion des veränderten Typhusbazillus auf Alkaligenes-Immunserum.

Solche Ergebnisse erschienen der Nachprüfung wohl wert. Es existieren in unserem Laboratorium drei verschiedene Stämme. Stamm I und Stamm II sind uns von Herrn Dr. Petruschky selbst, Stamm III von Herrn Dr. Spitta aus der Kulturensammlung der Kgl. Prüfungsaustalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung gütigst überlassen. Zu den Versuchen wurde zunächst Stamm I (in der Folge als »Alkaligenes I« bezeichnet) ausersehen, als Kontroll-Typhusstamm wurde Typhus ‚Halle' benutzt. Alkaligenes I bläute Lakmusmolke[1]) unter Bildung eines Oberflächenhäutchens bereits nach 24 Stunden intensiv und machte auch auf Kartoffel stets schon nach 24 Stunden einen deutlich gelbbräunlichen Belag, der späterhin noch dunkler und stärker wurde. Es war nun notwendig, die gegenseitige Beeinflussung der Stämme durch Alkaligenes I- und Typhus-Immunserum festzustellen. Es wurde zu dem Zweck ein Kaninchen mit lebender Alkaligenes I-Kultur und ein zweites mit abgetöteter, später lebender Typhus-Hallekultur intraperitoneal vorbehandelt.

Die Agglutinationsversuche wurden stets in der Weise vorgenommen, dafs 0,6 cbcm der frisch hergestellten Serumverdün-

1) Es wurde stets von Kahlbaum nach Petruschkys Vorschrift hergestellte Lakmusmolke benutzt.

nungen mit einer Öse (2 mm Durchmesser) 16—22 stündiger Agarstrichkultur im Reagensröhrchen gemischt und durchgeschüttelt und das Gemisch 2 Stunden bei 37° gehalten wurde. Als Grenzwert wurde diejenige Verdünnung betrachtet, in der eben noch bei makroskopischer Betrachtung des schräg gehaltenen Röhrchens gleichmäſsige Körnchenbildung zu erkennen war. Kontrollröhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung wurden stets angelegt. Im Zweifelsfalle und bei den jedesmaligen Grenzwerten wurde immer eine mikroskopische Kontrolle vorgenommen. 8 Tage nach der zweiten Vorbehandlung, am 27. Juni, hatte das Serum des Alkaligenes I-Kaninchens gegen seinen homologen Stamm einen Titre von 1 : 10000 angenommen, das des Typhus-Kaninchens gegen seinen Typhusstamm einen von 1 : 1000. Nunmehr wurde die gegenseitige Beeinflussung geprüft, dabei ergab sich:

	Typhusserum gegen Alkaligen. I	Alkaligen. I-Serum gegen Typhus
1/50	+	++
1/200	+	+
1/300	—	—

Bei Typhusserum 1/300 gegen Alkaligenes I war **mikroskopisch** noch eine Beeinflussung deutlich zu erkennen, bei Alkaligenes-Serum 1/300 gegen Typhus nicht.

Am 20. Juli standen nach weiterer Vorbehandlung dieselben Kaninchensera folgendermaſsen: Alkaligenes I-Serum hatte gegen seinen homologen Stamm einen Titre von 1 : 20000, Typhusserum gegen den seinigen 1 : 2000. Ferner:

	Typhusserum gegen Alkaligen. I	Alkaligen. I-Serum gegen Typhus
1/400	++	++
1/800	+	+
1/1000		+
1/1200	—	
1/2000		—

Inzwischen war auch noch hochwertiges, aus Bern stammendes Typhusserum gegen die beiden Stämme austitriert worden,

es agglutinierte unsern Typhusstamm noch in einer Verdünnung von 1 : 15000, den Alkaligenes I noch in 1 : 5000. Es besteht also eine ziemlich starke Beeinflussung — Gruppenagglutination — von Alkaligenes I-Bazillen durch Typhusserum und umgekehrt, besonders stark ist die erstere; Typhus-Immunserum war gegen Typhusbazillen nur in etwa dreifach stärkerer Verdünnung wirksam als gegen den Alkaligenes I-Stamm, während dieser mindestens 20mal höher als Typhusbazillen durch sein homologes Serum agglutiniert wurde. Es ist damit eine Verwandtschaft zwischen den beiden Stämmen erwiesen, und es mufs festgestellt werden, dafs der oben unter 2. augeführte Unterschied Petruschkys eine starke Einschräukung erfährt.

Es lag nun der Gedanke nahe, den Tierkörper, in dem ja manche Veränderungen von Bakterieneigenschaften (Virulenz, Agglutinabilität) vor sich gehen, zur Prüfung auf eine etwaige Variabilität des Alkaligenes I-Stammes zu benutzen. Es wurde die Passage durch mehrere Meerschweinchen gewählt.

Versuchsanordnung: Eine ganze, 3 Tage bei 37° gewachsene Schrägagarkultur wird mit 1 ccm steriler Bouillon abgeschwemmt und diese einem Meerschweinchen (Nr. 1) von etwa 200 g intraperitoneal injiziert. Das Tier ist schon nach wenigen Stunden schwer krank und stirbt nach 9 Stunden. Die unmittelbar darauf vorgenommene Sektion ergibt in der Bauchhöhle etwa $1\frac{1}{2}$ bis 2 ccm leicht getrübtes Exsudat, geringe fibrinöse Beläge der Därme. Von dem Exsudat wird sofort 1 ccm Meerschweinchen Nr. 2 intraperitoneal injiziert. Es wird am nächsten Morgen, 14 Stunden nach der Injektion, tot aufgefunden und seziert. In der Bauchhöhle ist knapp 1 ccm Exsudat, davon werden etwa 0,8 ccm Meerschweinchen Nr. 3 injiziert. Tod nach 11 Stunden, Sektion unmittelbar darauf, in der Bauchhöhle etwa $\frac{1}{2}$ ccm wenig getrübtes Exsudat. Von jedem Exsudat wurde eine Probe zur Prüfung auf Reinkultur auf mehrere Platten des v. Drigalski-Conradischen Agars ausgesät. Jedesmal waren nach 16 bis 20 Stunden nur ganz gleichmäfsige, blaue, tropfenförmige Kolonien aufgegangen, und auch nach mehreren Tagen noch boten die Platten das Bild der Reinkultur.

Der Keim von der dritten Plattenserie, nennen wir ihn »M_{III}« (d. h. Alkaligenes I nach der Passage durch drei Meerschweinchenbauchhöhlen), wurde nun genauer verfolgt. Die Kolonien der 1 Tag alten Drig.-Platte, im hängenden Tropfen betrachtet, bestehen aus sehr beweglichen, Scheinfäden bildenden Stäbchen. Die Agglutinationsprobe dieser Stäbchen im Tropfen mit Alkaligenes I-Serum 1 : 100 ergab kein deutliches Resultat, eine etwas deutlichere Beeinflussung fand durch Typhusserum 1 : 100 statt. Nach Überimpfung auf gewöhnlichen Agar wurde von hier aus am nächsten Tage, um den Keim wieder sicher zu identifizieren, eine Agglutinationsprobe mit Alkaligenes I-Serum (Titre 1 : 5000) 1 : 400 angesetzt, es zeigte sich aber nach $1^1/_2$ Stunden Brütschrankaufenthalt keine Spur von Beeinflussung. In der Erwartung, dafs er nach mehreren Agarpassagen seine Agglutinabilität wieder erlangen würde, wurde täglich übergeimpft. Inzwischen zeigte die von der ersten Agarpassage angelegte Kartoffelkultur einen weifslich feuchtglänzenden, fast unsichtbaren Belag, der auch am 5. Tage noch ebenso aussah, die entsprechende Lakmusmolkenkultur war nach 24 Stunden klar und schwach gerötet, mit anderen Worten, er hatte die beiden einzigen, seine Unterscheidung vom Typhusbazillus leicht ermöglichenden Kulturmerkmale verloren und auch darin typhusgleiche Eigenschaften angenommen. Als auch auf der fünften Agarpassage keine Agglutination mit Alkalig. I-Serum, selbst nicht in der Verdünnung 1 : 50, erreicht wurde, wurde die Agglutination mit Typhusserum versucht. Das Resultat war überraschend. Mit Typhusserum vom Titre 1 : 800 trat bei der Verdünnung 1 : 400 im hängenden Tropfen fast sofortige starke Agglutination ein, die sämtlichen angesetzten Kontrollen waren eindeutig. Es wurde daher jetzt eine systematische Austitrierung mit hochwertigem Typhusserum vorgenommen.

	Typhusserum auf Typhus Halle	Typhusserum auf M_{III}
$^1/_{5000}$	++	++
$^1/_{15000}$	+	+
$^1/_{17000}$	—	—

Ferner gleichzeitig:
Alkaligenes I-Serum auf M_{III} 1 : 100 —
Alkaligenes I-Serum auf Alkaligenes I 1 : 3000 +, 1 : 5000 —
Sämtliche Kontrollröhrchen mit NaCl-Lösung —

Das heifst, der durch drei Meerschweinchen gegangene Alkaligenes I wird von einem hochwertigen Typhus-Immunserum bis zu dessen Grenzwert beeinflufst, und da er auch seine beiden charakteristischen Kultureigenschaften in typhusgleiche umgewandelt hat, ist er jetzt mit den gewöhnlichen Methoden vom Typhusbazillus nicht mehr zu unterscheiden.

Um jeden Irrtum auszuschliefsen, wurde der Versuch noch einmal in genau der gleichen Weise wiederholt und mit besonderer Rücksicht auf etwaige postmortale Einwanderung von Bakterien Wert auf sofortige Sektion gelegt. Bei Meerschweinchen Nr. 2 (S. 73) war eine genaue Angabe der Zeit zwischen Tod und Sektion nicht möglich. Meerschweinchen Nr. 4[1]) erhält also wieder eine drei Tage bei 37° gewachsene Schrägagarkultur intraperitoneal, wird nach 10 Stunden in der äufsersten Agone getötet. Dessen Exsudat erhält Meerschweinchen Nr. 5, das nach 19 Stunden spontan verendet und sofort seziert wird, mit dessen Exsudat wiederum wird Meerschweinchen Nr. 6 geimpft, das zwar nach 23 Stunden noch lebt, aber schwer krank ist und (da die Nacht heranrückt) getötet wird. Von jedem Exsudat werden Aussaaten auf Platten gemacht, die auch nach mehreren Tagen noch das Bild einwandfreier Reinkulturen darbieten. (Das letzte Exsudat war übrigens bereits etwas eingedickt und enthielt im Gegensatz zu den anderen sehr zahlreiche Leukocyten und sehr spärliche Bazillen, die im gefärbten Präparat zum Teil innerhalb derselben zu sehen waren.) Der Keim aus dem dritten Exsudat (»M_{VI}«) wurde wieder einer genauen Prüfung unterzogen. Zum Vergleich wurden auch gleichzeitige und möglichst gleichmäfsige Aussaaten von Alkaligenes I, M_{VI} und Typhus auf blauen Agar und Gelatine gemacht. Wenn auch Petruschky[2]) selbst, Neufeld[3]) u. a.

---

[1]) Es wurden wieder Tiere von 200—220 g genommen.
[2]) Zentralbl. f. Bakt., 1889.
[3]) Kolle-Wassermann, Bd. II.

betonen, dafs der Bac. faec. alk. auf Agar und Gelatine »durchaus typhusähnlich« wachse, so konnten wir bei unserem Stamm doch beobachten, dafs er vor der Passage einige unerhebliche Unterschiede im Plattenwachstum gegen Typhus darbot, die er nach der Passage auch abgelegt hatte. Bei einzelnen Kolonien wären freilich diese Unterschiede nicht zu erkennen, nur wenn man Reinkultur gegen Reinkultur hält. So wächst Alkaligenes I auf der Drig.-Platte etwas dicker, saftiger, M_{VI}, wie Typhus, zarter, glasiger. Auf der Gelatineplatte ging bei Alkaligenes I die Häutchenbildung etwas langsamer vor sich, und die Häutchen näherten sich mehr Kreisformen, M_{VI} hatte durchaus die zarten Weinblattformen des Typhus. Ferner wurden von allen dreien gleichzeitig folgende Kulturen angelegt: Agarstrich, Agarstich, Gelatinestrich, Gelatinestich, Traubenzuckeragar, Neutralrotagar, Bouillon, Milch, Kartoffel, Lakmusmolke. Auf den ersten sechs Nährböden wuchsen, wie zu erwarten, alle drei gleich, ohne den Nährboden zu verändern, nur wuchs Alkaligenes I auf allen etwas üppiger, im Agarstrich war z. B. bei ihm ein entschieden dickerer grauer Rasen, aufserdem ein Fufswasserhäutchen vorhanden, was bei M_{VI} und Typhus nicht der Fall war. Bouillon hatte Alkaligenes I nach 24 Stunden stärker getrübt als die beiden andern und ein deutliches Oberhäutchen auf ihr gebildet, was M_{VI} und Typhus auch nach Wochen nicht taten. Die Indolprobe am sechsten Tage fiel bei allen negativ aus. Die Milchkultur von Alkaligenes I reagierte am vierten Tage schwach alkalisch, die von M_{VI} und Typhus gleichzeitig schwach sauer. Gerinnung trat im Verlauf von drei Wochen bei keinem ein, doch ging mit der Alkaligenes I-Milch eine andere Veränderung vor sich, indem sie infolge ihrer starken Alkaleszenz durchscheinend und gelblich wurde und so späterhin auch schon äufserlich leicht von den beiden andern zu unterscheiden war. Auf der Kartoffel war bei Alkaligenes I schon nach 24 Stunden ein ziemlich dicker, brauner Belag zu sehen, allmählich wurde auch die ganze Substanz der Kartoffel etwas gebräunt, M_{VI} und Typhus hatten beide ganz gleichmäfsig einen zarten, feuchten, geblich-weifslichen Belag hervorgebracht, der sich nicht veränderte. In Lakmusmolke end-

lich war der Unterschied am auffallendsten. Das Kulturröhrchen von Alkaligenes I war nach einem Tage deutlich blau, stark trüb und mit ziemlich starkem Häutchen versehen, das von M_{VI} und Typhus ohne Häutchen, fast völlig klar und deutlich gerötet. Am vierten Tage allerdings — beide hielten stets genau den gleichen Farbenton inne — erschien bei beiden ein schwacher, bläulich-violetter Schimmer, der sich auch späterhin nicht verstärkte, so dafs stets weithin ein Unterschied gegen das schöne, gesättigte Blau des Alkaligenes I-Röhrchens zu erkennen war. Ebenso erfolgte übrigens auch bei der entsprechenden Kultur von M_{III} (vgl. S. 74) nach einigen Tagen ein Umschlag zu schwacher Alkaleszenz. Eine später vorgenommene Vergleichsuntersuchung mit einem anderen Typhusstamm (Thyphus Kolle) zeigte kein Umschlagen, sondern dieser beliefs die Molke in ihrem klaren, schwach geröteten Aussehen wie am ersten Tage, das genau dem Aussehen von M_{VI} und Typhus Halle innerhalb der ersten Tage entsprach. Es verhalten sich also, wie auch schon Altschüler[1]) feststellte, nicht alle Typhuskulturen in Lakmusmolke im weiteren Verlaufe gleichmäfsig.

Die Agglutinationsversuche mit hochwertigem Typhusserum hatten folgendes Ergebnis:

	Typhusserum auf Typhus	Typhusserum auf M_{VI}
$^1/_{15000}$	++	++
$^1/_{18000}$	+	+
$^1/_{21000}$	—	—

Ferner:

Alkaligenes I-Serum auf Alkaligenes I 1 : 15000 +, 1 : 20000 —
Alkaligenes I-Serum auf Typhus 1 : 1200 +, 1 : 1500 —
Alkaligenes I-Serum auf M_{VI} 1 : 1200 +, 1 : 1500 —

Die Kontrollröhrchen zeigten die Scheinfäden bildenden Stäbchen stets in lebhaftester Bewegung und gleichmäfsiger Verteilung. Also auch wieder bezüglich der Agglutinationswerte eine genaue Übereinstimmung mit einem echten Typhusstamm! Da

1) a. a. O.

der Bac. faec. alk. bekanntlich auch die morphologischen Eigentümlichkeiten des Typhusbazillus hat, so standen wir wiederum vor der Tatsache, dafs der durch drei Meerschweinchen gegangene Alkaligenes I mit den heute zumeist üblichen Methoden nicht mehr vom Typhusbazillus zu unterscheiden ist. Denn allgemein wird doch jedes Stäbchen, das alle Kultureigenschaften des Typhusbazillus und Agglutination durch ein hochwertiges Typhus-Immunserum bis zu dessen Grenzwert aufweist, als echter Typhusstamm eingeführt. Wir müssen noch die Möglichkeit offen halten, ob nicht durch ein noch höherwertiges Serum schliefslich eine Differenzierung der beiden Keime M_{VI} und Typhus Halle zu erreichen gewesen wäre. Beco[1]) z. B. benutzt, um Gruppenagglutination möglichst auszuschliefsen, ein Typhus-Immunserum vom Titre 1 : 100000 und hatte damit auf einen Kolistamm noch bei 1 : 10000 Agglutinationswirkung. Aber auch ein noch so hoher Titre kann allein schliefslich keine Sicherheit geben, denn es mehren sich die Stimmen, die davon berichten, dafs typhusähnliche Keime ebenso stark und stärker durch Typhus-Sera beeinflufst werden als echter Typhus, so Stern[2]), Sternberg[3]), Jürgens[4]), Klinger[5]) u. a. Neuerdings beschreibt Jürgens[6]) gar einen Fall, bei dem die Gruppenagglutination (auf Paratyphusb.) achtmal höher war als die spezifische (auf Typhusb.). Nach alledem können wir zwar die äufserst nahe Verwandtschaft der beiden Keime M_{VI} und Typhus Halle, nicht aber ihre Identität aussprechen. Es fehlt noch der Pfeiffersche Versuch, den ich leider wegen Mangels einer genügend virulenten Kultur und aus äufseren Gründen nicht mehr in der Lage war anzustellen. Es ist allerdings anzunehmen, dafs er positiv ausfallen wird, denn, wie auch Neufeld[7]) meint, es ist bisher nicht bekannt geworden,

1) Zitiert nach Klinger, Zentralbl. f. Bakt., 1902/32.
2) Berliner klin. Wochenschr., 1903/30.
3) Zeitschr. f. Hygiene, 1900/34.
4) Zeitschr. f. Hygiene, 1903/43.
5) Zentralbl. f. Bakt., 1902/32.
6) Deutsche med. Wochenschr., 1904/30.
7) Kolle-Wassermann, Bd. II, S. 227.

dafs ein Bazillus, der sämtliche anderen Typhusproben bestanden hat, bei der Pfeifferschen Reaktion versagt hätte, somit gäben auch diese in ihrer Gesamtheit schon »einen hohen Grad von Sicherheit«. Auch die Frage der Pathogenität des Bac. faec. alk., von Altschüler kurz berührt, rückt damit wieder mehr in den Vordergrund. Petruschky[1]) selbst hielt ihn zuerst für harmlos, äufserte aber später[2]) starke Zweifel, da er selbst ihn aus Roseolen in Reinkultur züchtete, sein Schüler Burdach[3]) ihn bei der Sektion mehrerer typhusverdächtiger Fälle in Reinkultur vorfand[4]), ja Petruschky gibt die Pathogenität implicite zu, indem er bei Besprechung[5]) seines »Typhoïns« schreibt: »Zu den Ursachen des Mifslingens mufs ich rechnen das Vorliegen einer klinisch typhusähnlichen Erkrankung, die überhaupt nicht durch den Typhusbazillus, sondern durch andere Bakterien, z. B. Bact. coli, Bac. faec. alkalig., Bac. Pyocyaneus, Streptokokken oder Tuberkelbazillen erzeugt ist.« Auch Neufeld[6]) hält diese Befunde für beachtenswert. Erinnern wir uns, dafs unser Alkaligenes durch Typhus-Immunserum auch vor der Passage bis 1:5000 beeinflufst wurde, und dafs v. Drigalsky und Conradi bei ihrem Verfahren zur Schnelldiagnose des Typhus eine Identifizierung verdächtiger Kolonien nur mit Verdünnungen von 1:200 und 1:1000 hochwertigen Immunserums forderten, so ist es bei der weiten Verbreitung dieses Verfahrens nicht ausgeschlossen, dafs gelegentlich auch ein Alkaligenesbazillus statt eines Typhusbazillus untergelaufen ist. Allgemein wird ja jetzt auch bei dem Plattenverfahren eine höhere Agglutination verlangt. Halten wir diese Tatsachen — starke relative Serumbeeinflussung des Alkaligenes I vor der Passage, absolute nach derselben — mit den Berichten der Autoren Stern, Sternberg, Jürgens (vgl. S. 78) usw. und den Altschülerschen Befunden zusammen, so sind sie alle mit Recht sehr geeignet,

1) Zentralbl. f. Bakt., 1889.
2) Zeitschr. f. Hygiene, 1902/40.
3) Zeitschr. f. Hygiene, 1902/41.
4) Vgl. auch den Fall von Fischer, Zentralbl. f. Bakt., 1899.
5) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 40, S. 572.
6) Kolle-Wassermann, Bd. II.

bei der differentialdiagnostischen Bewertung des Agglutinationsphänomens zu immer gröfserer Vorsicht zu mahnen.

Es folgen noch einige orientierende Versuche mit den andern Stämmen des Bacillus faecalis alkaligenes unseres Laboratoriums, Stamm II (Petruschky) und Stamm III. Da wir ein so hochwertiges Alkaligenes-Immunserum in der Hand hatten, schien es von Interesse, dessen Einwirkung auf die anderen Stämme zu prüfen; die mehrfach wiederholten Agglutinationsversuche ergaben stets eindeutig, dafs unser Serum beide anderen Stämme völlig unbeeinflufst liefs. Einige Beispiele:

Am 28. Juni:	Alkaligenes I-Serum	+	Stamm	I	1 : 8000 +
	»	+	»	II	1 : 500 —
	»	+	»	III	1 : 500 —.

Auch dadurch, dafs Typhusserum sie gänzlich unbeeinflufst liefs, zeigten sie ihre Verschiedenheit von Stamm I.

Am 29. Juli:	Typhusserum	+	Typhus		1 : 1500 +
	»	+	Stamm	II	1 : 50 —
	»	+	»	III	1 : 50 —
	Alkal. I-Serum	+	Alkal.-Stamm	I	1 : 5000 +
	»	+		II	1 : 50 —
	»	+	»	III	1 : 50 —
Am 12. Aug.:	Alkal. I-Serum	+	Stamm	I	1 : 50 + + +
	»	+	»	II	1 : 10 —
	»	+	»	III	1 : 10 —

Damit war ihre Verschiedenheit von Stamm I erwiesen, und es ist festgestellt, was schon Altschüler vermutete, dafs es eine »Gruppe von Bacilli faecales alkaligenes« gibt. Bezüglich des Stammes II konnte ich das auch noch durch den Tierversuch bestätigen. Er wurde in genau der gleichen Weise angestellt, hatte aber nicht dasselbe Ergebnis.

Meerschweinchen Nr. 7 erhält eine 2 tägige Agarkultur in $1/2$ ccm Bouillon aufgeschwemmt intraperitoneal. Nach $10^1/_2$ Stunden in der äufsersten Agone getötet. In der Bauchhöhle etwa $1^1/_2$ ccm ziemlich klares schleimiges Exsudat, von dem ein ganzer Kubikzentimeter Meerschweinchen Nr. 8 injiziert wurde. Der Rest wurde

zur weiteren Untersuchung verwandt. Meerschwein Nr. 8 ist am nächsten Morgen (nach 14 Stunden) zwar schwer krank, doch nicht so sehr wie Nr. 7, trotzdem es eine gröfsere Flüssigkeitsmenge bekommen hatte als dieses, und erholt sich im Laufe des Tages sichtlich etwas, reagiert am Nachmittag viel lebhafter. Es wird daher, um des Exsudates nicht verlustig zu gehen, 24 Stunden nach der Injektion getötet. Sektion: Exsudat so gut wie völlig resorbiert, so dafs das bereit gehaltene Meerschwein Nr. 9 nicht gespritzt werden konnte. Ich konnte gerade noch zwei Platinösen voll einer dicklichen trüben Masse neben der Wirbelsäule hervorholen, davon kam die eine auf blauen Agar, die andere in ein Bouillonröhrchen. — Auf der von dem Exsudat des Meerschweins Nr. 7 ausgestrichenen α-Platte waren, im Gegensatz zu den sonstigen, auffallend wenige, nur etwa 30 Kolonien gediehen, diese waren alle gleichmäfsig, rund, blau, tropfenförmig, ziemlich saftig. Die β-Platte war und blieb steril, die α-Platte auch nach mehreren Tagen noch rein. Auf der mit dem Exsudat Nr. 8 bestrichenen Platte kamen überhaupt keine Kolonien auf. Die Bouillon, nach 24 Stunden völlig klar, war nach 48 Stunden mäfsig getrübt. Im hängenden Tropfen zeigte sie die bekannten Stäbchen, und auch durch Plattenaussaat wurde festgestellt, dafs in der Bouillon eine für Alkaligenes charakteristische Reinkultur enthalten war.

Die Kulturversuche hatten folgendes Ergebnis: Der aus dem Exsudat des Meerschweins Nr. 7 gezüchtete Keim bläute Lackmusmolke nach 24 Stunden unter Häutchenbildung ebenso intensiv wie vor der Passage, auf der Kartoffel jedoch wuchs er jetzt in einem zarten, weifslich feuchten Belag, genau so wie der auf derselben Kartoffel angelegte Typhusstamm. Noch am fünften Tage waren beide Kulturen unverändert. Was die Agglutination betrifft, so konnte keinerlei Einflufs der beiden Sera festgestellt werden. Alkaligenes I-Serum (vom Titre 1 : 5000) und Typhusserum (vom Titre 1 : 1500) übten auch in einer Verdünnung von 1 : 10 keine agglutinierende Wirkung aus. Genau ebenso verhielt sich der aus dem Meerschwein Nr. 8 wiedergewonnene Keim.

Auf der Kartoffel weifses Wachstum, während der auf derselben Kartoffel angelegte Alkaligenes II vor der Passage schon nach 24 Stunden eine Bräunung hervorgebracht hatte. Auf einer andern Kartoffel zusammen angelegte Kulturen von Typhus und dem letzten Exsudat wuchsen ganz gleichmäfsig weifs. Lackmusmolke wurde gebläut, Immunsera von Alkaligenes I und Typhus in der Verdünnung 1 : 10 hatten keinen Einflufs. Stamm II unterscheidet sich also durch sein Verhalten vor der Passage gegen die Serumreaktion, die viel geringere Virulenz für Meerschweinchen, durch seine Kultureigenschaften nach der Passage von Stamm I (Alkaligenes I hat bereits nach der zweiten Passage, wie ich bei Meerschwein Nr. 2 prüfte, sowohl auf Kartoffel wie auf Lackmusmolke typhusgleiches Wachstum angenommen).

Es wäre nun natürlich von Wichtigkeit, Stamm II weitere Passagen machen zu lassen, ferner, wie schon erwähnt, das Verhalten des veränderten Alkaligenes I bei dem Pfeifferschen Versuch zu prüfen, den Zeitpunkt des Eintretens seiner Veränderung nach der Typhusnatur festzustellen, mit Stamm III Versuche zu machen u. v. a. Leider bin ich aber verhindert, weiter darüber zu arbeiten, die Versuche werden jedoch im Institute fortgesetzt. Immerhin ergibt sich, um damit zu schliefsen:

1. Der in unserem Laboratorium befindliche Stamm I des Bacillus faecalis alkaligenes (Petruschky) ist nach der Passage durch drei Meerschweinchen so verändert, dafs er mit den gewöhnlichen Methoden (Kulturen, Agglutination) von einem echten Typhusbacillus nicht zu unterscheiden ist.
2. Es gibt eine Gruppe von Bacilli faecales alkaligenes, da sich unser Stamm II und Stamm III bezüglich der Serumreaktionen (Stamm II auch im Tierversuch) ganz verschieden von Stamm I verhalten.

Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner sage ich für das Interesse an meiner Arbeit, Herrn Prof. Dr. Ficker für seine stets freundliche Unterstützung aufrichtigen Dank.

Die Malaria in Italien im Jahre 1903.

Epidemiologische und prophylaktische Forschungen,

zusammengefaſst von

A. Celli.

(Italienische Gesellschaft zur Malariaforschung.)

Die Untersuchungsstationen, in denen meist unter meiner Leitung im vergangenen Jahre epidemiologische und prophylaktische Malariastudien angestellt wurden, waren zahlreicher als 1902.[1])

Im V. Bande unserer Akten sind verschiedene Berichte veröffentlicht worden.[2])

Unserm Beispiel folgend, wurde durch Laveran eine korsische Gesellschaft zur Malariabekämpfung, eine ähnliche in Algier,

---

1) Dieses Archiv, Bd. 40, 44, 48.

2) Aus Oberitalien: Prof. Bertarelli (Turin), Dr. Vaccino (Vercelli), Dr. Omodei Zorini, Velasco e Pezza (Lomellina), Dr. Omizzolo (Vicenza), Dr. Polettini und Ambrosi (Verona), Dr. Soliani (Mantua).

Aus Mittelitalien: Dr. Tusini (Modena), Dr. Orta (Ferrara), Dr. Pasquini (Val di Chiana), Prof. Gualdi, Dr. Ambrogetti, Bosinelli, Giusti, Maggi, Speranza (Römische Campagna), Dr. Caccini und Mariani (römische Zivilkrankenhäuser), Dr. Mariotti Bianchi (römisches Militärkrankenhaus).

Aus Unteritalien: Prof. Rossi (Terra di Lavero), Dr. Labranca und Dr. Nicastro (Capitanata), Dr. Tecce (Basilikata), Dr. Dechiara (Kalabrien), Dr. Tanzarella (Lecce).

Von den Inseln: Prof. Manfredi und seine Schüler, Dr. Fontana, Ing. Sbacchi (Sizilien), Prof. Fermi, Dr. Cano (Sardinien).

Aus ganz Italien: Generalarzt Chiaiso für das Heer, Generalzolldirektion für die Zollbeamten, Dr. Ricchi für die Eisenbahngesellschaft Rete adriatica.

vom Institut Pasteur abhängend, und die russische Gesellschaft zum Malariastudium unter Prof. Gabritschewskys Leitung gegründet.

Die internationalen wissenschaftlichen Beziehungen wurden in bezug auf dieses so allgemein interessante Studium noch enger; auf diese Weise konnten wir dieses Jahr Vergleiche zwischen der Malaria bei uns und an der österreichischen Küste (Dr. De Celebrini), in Korsika, Algier, in den französischen Kolonien (Dr. A. Billet und die Gebr. Sergent), in Erythräa (Dr. Mozzetti und Memmo), in Holländisch-Indien (Dr. J Th. Terburgh) anstellen.

Indem ich den Leser auf die einzelnen Arbeiten verweise, die im V. Band unserer Akten erschienen sind, will ich hier kurz das zusammenfassen, was im vergangenen Jahre Wichtiges in bezug auf Epidemiologie und Prophylaxis vorgefallen ist.

Erster Teil.

Malariaepidemiologie.

1. Allgemeiner Verlauf der Epidemie.

Das Epidemiejahr 1903 war im allgemeinen leicht, vielleicht noch leichter als das Vorjahr. Die sozusagen spontane Malaria-abnahme fährt also seit 1900 fort. Aber, wie bereits 1902, fehlte es in den verschiedenen Teilen Italiens nicht an Ausnahmen.

Während im Vorjahr die Malaria in der ganzen Emilia ausnahmsweise milde auftrat und in der Stadt Argenta in einem grofsen Teile des Ortes wegen der hydraulischen und chemischen Prophylaxis nachgelassen hatte, brach sie 1903 in einem Vorort aus, der bis dahin beinahe immun gewesen war. Hier im unteren Aniotal gab es in der zur Gemeinde Rom gehörigen Orten zum grofsen Teil auch durch unsere Prophylaxis kaum Malariafälle, während in den der angrenzenden Gemeinden (Tivoli, Montecelio) die Malaria so schwer auftrat wie seit Jahren nicht.

Während in Capitanata (Trinitapoli) seit 1899 (Pandemiejahr) die Malaria abnimmt, dauert sie im Brindisanischen (Tuturano) und im Melfesischen (Atella) nicht nur mit hartnäckigen Rezidiven fort, sondern auch mit einer grofsen Anzahl frischer Infektionen und Perniciosafällen. In der nicht grofsen Provinz Lecce blieb sie nur in Brindisino sehr schwer, während sie in der Umgebung von Capo di Leucas abnahm.

In Cotronese (Kalabrien) und in Sizilien war die Malaria im allgemeinen nicht leichter als im vorangegangenen Jahr.

In vielen unserer südlichen Provinzen ist die Malaria mit einigen geringen Schwankungen leider immer gleich schwer und nimmt oft einen tödlichen Verlauf, wie gewifs nicht häufiger in den Tälern Erythräas, Algiers und Holländisch Indiens. Während sie in den beiden letztgenannten Ländern viel von ihrer früheren Schwere eingebüfst hat, ist sie seit Jahrhunderten gleichmäfsig eine Plage für unsere südlichen Provinzen; um sie auszurotten, sind deshalb viele und nicht leichte Hindernisse zu überwinden.

Tröstlich ist es zwar, dafs an zwei vom Fieber so heimgesuchten Orten, wie Ostia und das untere Aniotal, wo wir seit Jahren die Malaria bekämpfen, die Epidemie nach und nach rasch abnimmt. Aber erst mit der Zeit wird man feststellen können, welchen Anteil Menschenwerk, welchen Anteil uns heute noch nicht genau bekannte Umstände an dieser glücklichen Wendung der Dinge haben.

2. Geographische Verteilung der Malariaparasiten.

Die Parasiten der schweren Malaria sind in Holländisch-Indien und in den am meisten heimgesuchten Gegenden Erythräas im Verhältnis nicht häufiger als in unseren südlichen Provinzen: in den erstgenannten Tropenländern nimmt die schwere Tertiana, je höher die Orte liegen, ab, und die leichte Tertiana nimmt ihren Platz ein, wie bei uns von Süd nach Nord, um dann von Norditalien bis Nordeuropa gänzlich aufzuhören.

Obgleich die früher von mir aufgestellten Gesetze über die geographische Verteilung der einzelnen Malariaparasiten bestätigt worden sind, wurde im Vorjahr das Vorherrschen der schweren Tertianaparasiten in einigen Reisfeldern des Vicentinischen beobachtet, während in Lomellina und Umgebung, das ebensoviel mit Reis bebaut wird wie die Umgebung Vercellis, die der leichten Malaria viel häufiger vorkamen.

Den höchsten Prozentsatz Quartanafieber, 36—40%, der bis jetzt beobachtet worden ist, war im Vorjahr in Trinitapoli (Foggia) bei sonst leichter Epidemie.

3. Malariarezidive.

Gar keine oder wenig Fortschritte hat die Diagnose der latenten Malaria gemacht.

Capogrossi hat definitiv festgestellt, dafs die Isoagglutination gar keinen diagnostischen Wert hat, da das Serum in den verschiedensten Krankheiten diese Eigenschaft besitzen kann, und weil das menschliche Blutserum in pathologischem Zustand ziemlich häufig und manchmal sogar das normale Blutserum isoagglutinierende Kraft auf die roten Blutkörperchen besitzt. Und nicht einmal darf man hoffen, diese schwierige und so wichtige Diagnose in der verbreiteten oder lokalisierten Metachromie der roten Blutkörperchen gefunden zu haben[1], da ähnliche Veränderungen auch bei anderen Anämien sichtbar sind.

Bis jetzt kann man also Rezidive nur in der von mir bereits erwähnten Weise[2]) diagnostizieren, sei es durch Blutuntersuchung, sei es klinisch oder durch Analogie. Man kann noch hinzufügen:

1. Bei der Blutuntersuchung: Wenn man von einem Jahr zum andern das Blut untersucht und nie Änderungen wahrnimmt, kann man annehmen, dafs es sich um ein Rezidiv handelt.

2. Bei der klinischen Diagnose: Wenn man den Zeitpunkt der neuen Infektion kennt, und das Ausbrechen des Fiebers nicht der Inkubationszeit entspricht, läfst alles darauf schliefsen, dafs es sich um ein Rezidiv handelt.

Wenn man bis jetzt mangels etwas Besserem die oben erwähnten Kriterien benutzt, kann man im allgemeinen und für jede der drei hauptsächlichen Fiebergruppen die Rezidive in drei Gruppen teilen:

1. nach wenig Tagen (sog. Rückfall),
2. nach kurzer Zeit, d. h. nach einer Woche oder innerhalb eines Monats,
3. nach langer Zeit, d. h. nach einem und mehr Monaten und nach einem und mehr als einem Jahre seit der ersten Infektion.

Dr. Caccini und andere unserer Mitarbeiter haben die Rezidive genau verfolgt und gefunden, dafs zufällige Ursachen sie oft hervorrufen, wie:

a) schlechte Ernährung, Idiosynkrasie vor gewissen Speisen,
b) Magen- und Darmstörungen,
c) schwere und lang fortgesetzte Arbeit,

1) Sie wurde bei der Malariainfektion zuerst von Marchiafava und mir beschrieben.

2) Siehe dieses Archiv, Bd. 48.

d) nervöse Aufregungen (Furcht),
e) plötzliche Erkältungen (Regen, Feuchtigkeit),
f) Klima- und Temperaturwechsel,
g) Traumen, chirurgische Operationen,
h) Schwangerschaft uud normale Niederkünfte,
i) andere Infektioneu wie Lungenentzündung etc.,
k) Heilmittel, Tuberkulin, manchmal auch Jodkali (Mischinfektioneu).

Diese Ursachen fehlen fast nie bei Rezidiveu nach laugen Zwischenräumeu und bewirken aufserdem bei den Rezidiven nach kurzen Zwischenräumen ein häufigeres und schwereres Auftreten.

Bei leichtem Tertiana- uud Ästiv-Autumnalfieber dauert die kurze Latenzperiode wahrscheinlich so lange wie die resp. Inkubationszeit, während wir noch nicht wissen, wie wir uus die Dauer der langen Latenzperiode erklären sollen. Die Arzte, die in gesunden Orten praktiezieren und Gelegenheit haben, Leute, die aus Sumpfgegenden kommeu, ohne je wieder dorthin zurückzukehren, zu behandeln, müfsten dies am besten feststellen können. Ich wandte uud wende mich an sie, damit sie uus wenigstens behilflich sind, diese Seite des Rezidivproblems zu lösen, das trotz der neueren Studien noch so viel Dunkles enthält.

Unter anderem ist noch zu entscheiden, ob das kindliche Alter prädisponierend für die Rezidive nach langen und kurzen Zwischenräumen ist, oder ob die bekannte Hartnäckigkeit der Rezidive bei Kindern von der schwierigen Behandlung mit einem Heilmittel abhängt, das, wenngleich wirksam, so doch widerwärtig und bitter ist. Man mufs abwarten. ob die neuen Chininpräparate (Chinin in verzuckerten Tabletten, in Schokoladenplätzchen) auch auf die Rezidive der Kinder dieselbe gute Wirkung ausüben, als auf die Heilung der Fieberanfälle und bei der Prophylaxis.

Alle oder fast alle Bewohner in von schwerer Malaria heimgesuchten Gegenden tragen bei uns die Zeichen einer Infektion. Die hartnäckige Rezidive der Ästiv-Autumnalfieber ist ein anderes charakteristisches Zeichen der Malaria in Süditalien. Die andauernde Schwere der Malaria kann auch von den hartnäckigen Rezidiven abhängen; aber diese sind nicht im Verhältnis wie Ursache und Wirkung zum Ausbruch der neuen Infektionen, wenn es auch viel Anopheles gibt und die geeignete Temperatur lange andauert.

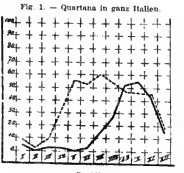
Das Problem der Rezidive mufs im allgemeinen, aber besonders bei den Astiv-Autumnal- und Quartanafiebern noch genauer studiert werden.

Es ist seltsam, dafs aufserhalb Italiens (Istrien ausgenommen) bis jetzt das Rezidivproblem beinahe gar nicht in Erwähnung gezogen ist, das bei der Malariaepidemiologie und Prophylaxis doch so wichtig ist.

4. Jährlicher Verlauf der Malariarezidive.

In einer früheren Arbeit setzte ich auch mit graphischen Tabellen die in Ober-, Mittel- und Unteritalien vorherrschenden Epidemietypen auseinander.

Fig. 1. — Quartana in ganz Italien.



------- Rezidive
——— Neuinfektionen.

Ich unterschied damals, da es nicht anders möglich war, die Rezidive nicht von den frischen Infektionen und nicht einmal die verschiedenen Infektionsarten (Ästiv-Autumnal-, leichtes Tertiana- und Quartanafieber).

In meinem Bericht 1901/02 kam ich auf die genannten Typen zurück und bezeichnete sie nicht nur in den verschiedenen Gegenden genauer, sondern teilte sie auch nach den verschiedenen Fieberarten ein.

Jetzt kann ich nach meinen[1]) und den von meinen Mitarbeitern gemachten diesbezüglichen genauen Beobachtungen von 1900 an den Verlauf der Rezidivfieber und getrennt die drei frischen Infektionen (Ästiv-Autumnal-, leichtes Tertiana- und Quartanafieber) schematisch darstellen.

Die Quartanafieber haben durch ganz Italien denselben Verlauf, wie aus Fig. 1 hervorgeht.

Die Rezidive der leichten Tertiana (Fig. 2, 3, 4) haben ebenfalls eine mehr oder minder grofse preepidemische Zunahme in ganz Italien.

1) Dieses Archiv, Bd. 44.

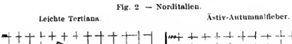
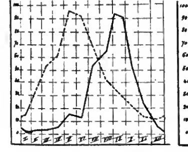


Fig. 2 — Norditalien.

Leichte Tertiana. Ästiv-Autumnalfieber.



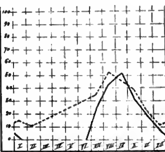
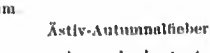


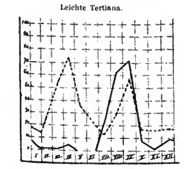


Fig. 3. — Latium.

Leichte Tertiana.



Ästiv-Autumnalfieber.



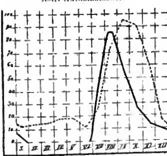
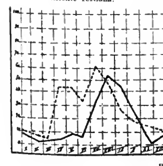
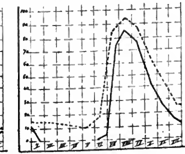


Fig. 4. — Süditalien.

Leichte Tertiana. Ästiv-Autumnalfieber.





------- Rezidive.
——— Neuinfektionen.

Es scheint hingegen, als ob die Ästiv-Autumnalfieber einen etwas anderen Verlauf haben. Die Zunahme der Rezidive geht der eigentlichen Epidemie in Oberitalien (Fig. 2), auch zuweilen in Süditalien (Fig. 4) wenig voraus; in Mittelitalien ist sie fast gleichzeitig mit dem Ausbruch der Epidemie. Diese Figuren bestätigen im allgemeinen das, was ich bereits über die Rezidive gesagt habe. Ich halte sie aber noch nicht für definitiv richtig: die diagnostischen Schwierigkeiten der latenten Malaria sind noch zu viele, die Rezidive wechseln noch zu sehr von einem Jahr zum andern. Ein anderer Fiebertypus herrscht bei schwerer oder leichter Malariaepidemie vor.

Diese Schemata sollen dazu dienen, die Aufmerksamkeit der Malariaforscher auf sich zu ziehen und auf diese Weise hoffentlich andere Beobachtungen hervorzurufen, die besonders für die Rezidive des Ästiv-Autumnalfiebers und des Quartanafiebers notwendig sind. Dadurch würde es uns endlich gelingen, die normalen Typen kennen zu lernen und somit auch die respektiven jährlichen Schwankungen.

5. Anfang und Dauer des Epidemiejahres.

Um genau die Zeitgrenzen der Entwicklung der neuen Epidemie feststellen zu können, müfste man bei jedem frischen Malariafieber besonders zwei Umstände in Betracht ziehen:

1. Dauer der Inkubationszeit.

Im Militärkrankenhaus in Rom war Mariotti-Bianchi in der Lage, dies genau klinisch feststellen zu können: bei der leichten Tertiana dauert die Inkubationszeit von einem Minimum von zehn bis zu einem Maximum von 20—21 Tagen, durchschnittlich 14—18 Tage, ausnahmsweise 26 Tage; bei dem Ästiv-Autumnalfieber von einem Minimum von sechs bis zum Maximum von 12—13 Tagen; bei der Quartana (nur zwei Fälle) 20—21 Tage. Diese neuen klinischen Beobachtungen stimmen mit den vorangegangenen und den experimentellen Beobachtungen überein.

2. Klinische Symptome der ersten Malariainfektion.

Der erste Fieberanfall kann bei den leichten Formen so schwach sein, dafs er unbemerkt bleibt oder kann besonders bei Kindern unter anderen Symptomen, wie Darmbeschwerden, sich verbergen. Nur das Blutuntersuchen, und auch dies nicht immer, kann den Zweifel heben, der immer entsteht, wenn die ersten sicheren Anzeichen einer Infektion in Monaten sich kundtun, in denen die Epidemie gewöhnlich beendigt ist oder noch nicht angefangen hat.

Auf jeden Fall mufs man, um sicher zu gehen, alle zweifelhaften Fälle ausschliefsen und als wirklich frische Infektionen nur die der im Winter geborenen Kinder und die der aus gesunden Gegenden hergezogenen Personen bezeichnen.

Auf diese Weise konnten, wie bereits in Latium, in Nord- und Süditalien einige vereinzelte leichte Tertianainfektionen im Frühjahr festgestellt werden. Da aufserhalb Italiens, besonders in den Tropen, die frischen Infektionen nicht genau von den Rezidiven unterschieden werden, kennt man nicht genau den Anfang und die Dauer des sog. eigentlichen Epidemiejahres, wenigstens ist dies noch nicht beschrieben worden.

6. Verlauf der Malariaepidemie.

Im allgemeinen bestätigen sich die von mir aufgestellten Gesetze, die in den Fig. 1—4 schematisch dargestellt sind, die den Anfang, Verlauf und die Dauer der einzelnen Epidemien der Quartana, leichten Tertiana und schweren Tertiana in Latium, Nord- und Süditalien angeben.

Aus Fig. 1 geht hervor, dafs sowohl wie bei den Rezidiven auch bei den frischen Infektionen die Quartana einen einförmigen Verlauf hat. Von den sehr seltenen neuen Infektionen in den ersten Monaten des Jahres ist aber anzunehmen, dafs sie vom Vorjahre herrühren, da ihre relative Inkubationszeit schwankend, aber immer länger als die der anderen Infektionen ist. Etwas Analoges kann man von der leichten Tertiana behaupten (Fig. 2, 3, 4), die aber in allen Teilen Italiens, besonders aber in Norditalien, auch frische Infektion sein kann. Es bleibt uns noch übrig, ihren Verlauf, besonders im ersten Semester, in Süditalien besser zu verfolgen.

Die Ästiv-Autumnalfieber (Fig. 2, 3, 4) kommen zweifellos mehrere Monate des ersten Jahressemesters, von Januar bis Juni, nicht vor.

Die vorangegangenen Figuren bestätigen auch, was den Verlauf der frischen Infektionen anbetrifft, meine vorangegangenen Beobachtungen; aber es ist angebracht, diese immer von neuem an verschiedenen Epidemiearten und -Zeiten zu kontrollieren, da sie sich von Jahr zu Jahr selbst am selben Ort etwas ändern könnten.

7. Leben der Stechmücken im Zusammenhang mit der Malariaepidemie.

Auch in Holländisch-Indien und Erythräa sind Paladismus und Anophelismus nicht in demselben Verhältnis zu den Malariaerkrankungen, d. h. man findet auf bestimmter Höhe Anopheles ohne Malaria.

Bei uns hat ebenfalls in Piemont die Malaria trotz des verbreiteten und überlebenden Anophelismus abgenommen.

Aber sowohl in den Tropen wie bei uns trifft dies in besonders heifsen Gegenden nicht ein, so dafs der Temperatur ein direkter oder indirekter Einflufs dabei zuzuschreiben ist.

Viele unserer Mitarbeiter stimmen überein, dafs auch da, wo im Vorjahr die Malaria leichter auftrat, die Zahl der Anopheles darum nicht geringer war und an einigen Orten Süditaliens auch die Zahl der Rezidive nicht abgenommen hatte.

8. Zusammenhang zwischen der Hämosperideninfektion der Anopheles und der Malariaepidemie.

In Algier ist wie in Italien im Verhältnis die Zahl der infizierten Anopheles sehr gering, nach den Brüdern Sergent betrug sie 1903 kaum 1,66%, während 48,5% der Einheimischen an Malaria (Rezidive und frische Infektionen) erkrankten.

In Trinitapoli kamen viele Rezidive vor, 2,5% der Stechmücken waren infiziert, frische Infektionen gab es wenig, kaum 8% der Kinder und der aus gesunden Orten Zugezogenen.

Dr. Martirano untersuchte den ganzen Winter und das ganze Frühjahr hindurch die überwinternden Stechmücken aus Atella, eines der schwersten Malariaherde der Welt, fand aber von November ab keine infizierten mehr.

Von 400 Anopheles, die im März und April 1903 in den Häusern Malariakranker in Terentano, wo ebenfalls schwere Malaria herrscht, gefangen wurden, war keine infiziert. Erst Mitte Juni, wie ich hier bereits 1899 im Latium beobachtet hatte, wurden die ersten infizierten Stechmücken gefunden. Mein Assistent, Dr. Labranca, untersuchte regelmäfsig vom März 1902 bis November 1903 in der römischen Campagna und in Apulien gefangene Stechmücken und zwar:

159 im März, 472 im April, 155 im Mai, 209 im Juni, 103 im Juli, 164 im August, 103 im September, 36 im Oktober, 19 im November: im ganzen 1420 Anopheles, und fand nur eine von 164 im August und drei von 103 im September infiziert.

Es mufs noch näher festgestellt werden, ob, wie Dr. Terburgh meint, in Holländisch Indien das ganze Jahr hindurch nie die Infektion der Stechmücken aufhört, während die Epidemie, wie überall, monatlichen Schwankungen unterworfen ist. Auch die von Dr. Mozzetti angeführte Tatsache, dafs es in Erythräa weite, einsame Landstrecken gibt, die gar nicht oder kaum von Menschen bewohnt sind, die so malerisch sind, dafs es genügt, eine Nacht dort im Freien zu schlafen, um sich das Fieber zu holen, mufs noch weiter verfolgt werden.

Es wäre interessant, zu erfahren, ob die frei lebenden Stechmücken in gröfserer Zahl als bei uns infiziert sind, oder ob sie eventuell länger infiziert bleiben können.

9. Landwirtschaft und Malaria.

Dr. Tusini verfolgte im Modenesischen noch weiter die von Dr. Badaloni bereits erwähnte Tatsache eines Zusammenhanges zwischen Zuckerrübenbau und Malariaepidemie. Diese Kultur ruft Anophelismus in Orten hervor, die bis dahin von der Existenz der Stechmücken nichts ahnten, d. h. bei trockenem Boden ohne stehende Gewässer, die also bis dahin ganz malariafrei waren.

Wenn man die Blätter dieser Pflanzen in den heifsen Monaten bewegt, erheben sich Schwärme von Mücken, unter ihnen auch Anopheles, die die Kühle in den Blättern wahrscheinlich anzieht und eventuell etwas Zucker saugen. Es ist aber noch die Frage, wie die Eier und Larven zwischen den Zuckerrüben leben können.

Viele unserer Mitarbeiter aus Ober- und Mittelitalien haben wieder eingehend die jetzt besonders auf der Tagesordnung stehende Frage des Zusammenhanges zwischen Reisfeldern und Malaria behandelt.

Es ist bestätigt worden, dafs in Lomelina und Vercellese das Ausdehnen der Reisfelder die Abnahme der Malaria nicht beeinträchtigt hat.

Es scheint auch wahrscheinlich, dafs in Oberitalien wie in Mittelitalien, Reisfelder ohne oder nur mit geringer Malaria vor-

handen sind. Die am Ort ansäfsigen Kollegen müfsten uns dies aber Fall für Fall genau beweisen. Es ist ebenfalls bewiesen, dafs in den unteren Tälern Oberitaliens, die an und für sich sehr wasserreich sind, die Reisfelder die Vorbedingungen zur Malaria (Sümpfe) nicht erheblich vermehren, sie vielleicht sogar verbessern.

Anderseits steht aber zweifellos fest:

a) dafs im allgemeinen, wo Reisfelder sind, auch Malaria herrscht;

b) dafs der Reisbau anfänglich die lokalen prädisponierenden Malariaursachen verschärft;

c) dafs in einigen Orten mit Reisfeldern die Malaria hartnäckig mit hohem Ästiv-Autumnal-Prozentsatz vorkommt, wie im Parmesischen und Vicentinischen, und dafs in anderen Gegenden, wie im Vercellesischen, sie in einigen Teilen schwerer geblieben ist als in anderen;

d) dafs die Malariafieber häufiger bei den von aufserhalb kommenden Arbeitern vorkommen als bei den einheimischen, und meist erst ausbrechen, wenn erstere in ihre Heimat zurückgekehrt sind. Während der Reinigung des Reises vom Unkraut treten die ersten frischen Infektionen, besonders wenn das Wetter im Frühjahr kühl und regnerisch war, erst spät auf, im allgemeinen sind die Infektionen in der zweiten Hälfte des Juni, d. h. wenn sich diese Arbeit ihrem Ende nähert, am häufigsten. Es ist daher notwendig, die Erntearbeiter auch dorthin zu verfolgen, um einige zu optimistische Statistiken der Ärzte aus Reisfeldgegenden zu vervollständigen;

e) dafs, wenn anderswo der Reisbau aufhören konnte, die Malaria erheblich abnahm, ja beinahe aufhörte, wie im Parmesischen und Vicentinischen, manchmal auch trotz des fortdauernden Anophelismus.

Bemerkt sei dabei aber, dafs die Abschaffung des Reisbaues nach einem Jahr von Malariapandium angeordnet wurde, und dafs wir uns jetzt in einer Periode fortwährender Abnahme der Malaria befinden; aufserdem sind in vielen Orten die Reisfelder

nicht die einzige Ursache des Paludismus, und diese bleiben, wenn auch der Reisbau aufhört.

Ich bleibe also auch nach dem verflossenen Malariajahr bei meiner früher bereits ausgesprochenen Meinung, dafs man versuchen kann und mufs, den Reisbau, der sehr einträglich ist, bestehen zu lassen, und die dort wohnende Bevölkerung durch prophylaktische Mafsregeln vor Malariainfektion zu schützen.

Dr. Polettini, Pezza, Omodei-Zorini, Orta haben sich aufserdem mit dem Studium anderer Krankheiten beschäftigt, die durch den Reisbau hervorgerufen werden.

Die Reinigung des Reises ist die charakteristische Arbeit in den Reisfeldern. Zu dieser Zeit erkranken die Arbeiterinnen in noch näher festzustellenden Verhältnissen an folgenden Krankheiten:

Magen- und Darmkatarrh. Unterleibserkrankungen: Zu- und Abnahme der Menstruation, Uterusknickung während der Schwangerschaft oder in den Wochen. Bleichsucht, Chlorosis. Dermatitis der unteren Extremitäten, einfache oder blasse pustelförmige Eritheme mit mehr oder minder starkem subkutanem Ödem.

Diese letztere Krankheit holt man sich aber nicht nur allein bei der Reisarbeit, sondern auch, wenn man sich mit nackten Füfsen in das Sumpfrohr stellt. Auf jeden Fall ist auszuschliefsen, dafs die irritierende Wirkung des durch chemischen Dünger verunreinigten Wassers oder die Verwesung des während der Reinigung ausgerissenen Unkrauts die Ursache sei. Es ist ebenfalls nicht bewiesen, ob ein stechendes und irritierendes Gras (Grata genannt) oder ein Celenterat mit Brennesseln die spezifische Ursache sei. Die Ätiologie mufs noch näher erforscht werden.

Das lange Stehen im Wasser, das 26° erreichen kann, mufs die Haut zum Erweichen prädisponieren.

Piogene und ähnliche Bakterien, die reichlich vorhanden sind, könnten das übrige verursachen, auch wenn sie durch stechende Gräser inokuliert werden. Es ist zweifelhaft, ob Bedeckung der Beine mit Strümpfen und Tüchern nützt, eher wäre Einreiben der Haut mit Pech und Fett anzuraten, um die obengenannten Dermatiten zu vermeiden.

Auch einige Unfälle kommen bei der Reisreinigung vor, wie traumatische Hornhautläsionen oder durch Stechen von Blättern verursachte Hornhautentzündungen.

10. Andere prädisponierende oder nichtprädisponierende Malariaursachen.

Bereits vor Koch habe ich[1]) darauf hingewiesen, dafs die natürliche Immunität eine seltene Ausnahme ist, während eine nach erlittener Malaria erlangte Immunität häufiger ist.

1) Dieses Archiv, Bd. 40 und Atti Soc. per gli studi della Malaria, Bd. 1.

In Trinitapoli könnte man nur mit einer auf ein Jahr schwerer Pandemie folgenden Immunität die nach 1900 stattgefundene Abnahme erklären, da die sozialen Verhältnisse und augenscheinlich anch die lokalen dieselben geblieben sind. Auf ähnliche Weise wollen einige die Pandemie oder die gewöhnlich alle 10—12 Jahre etattfindende Zunahme der Malaria erklären.

Wir wissen aber nicht, warum derselbe Grund in Capitanata stichhaltig wäre und nicht im nahen Atella, und warnm in der Provinz Lecce auch nicht in Brindisino, wo nur eine leichte Abnahme der Perniciosafälle bei den Erwachsenen im Vergleich zu den Kindern zu beobachten war.

Nichts Neues haben wir über den Zusammenhang der Meteorologie und der einzelnen Epidemien der drei hauptsächlichen Malariainfektionen feststellen können. In den Tropen scheint es, dafs der Verlauf der Sumpffieber nicht von der Temperatur abhängt, sondern von den Regengüssen, wie im holländischen Indien und Erythräa. Aber auch mit diesem Zusammenhang müfste man sich noch näher beschäftigen, indem man die Rezidive ganz von den frischen Infektionen trennte und ebenfalls die drei verschiedenen Fieberarten.

Von den epidemiologischen Problemen, die ich im vergangenen Bericht als ungelöst bezeichnete, ist nur das der Rezidivität etwas aufgeklärt worden, alle anderen haben auch in den Tropen, Holländisch-Indien, Erythräa, neue Zweifel entstehen lassen.

Es ist feststehend, dafs aus all den Beobachtungen innerhalb und aufserhalb Italiens hervorgeht, dafs die erste Aufgabe: Malariakranker Mensch + Anopheles = Malariaepidemie doch zu einfach ist.

Diese Epidemie kann man, wie ich bereits 1899[1]) behauptete, mit der einfachen und nackten Anophelestheorie, ohne viele andere prädisponierende und immunisierende Faktoren biologischen (x), physischen (y) und sozialen (z) Ursprungs in Betracht zu ziehen, nicht erklären. Diese Faktoren sind noch wenig oder gar nicht bekannt, einige ziehen wir jetzt erst etwas in Betracht, ihre Wirkung auf Mensch und Stechmücke kennen wir wenig oder gar nicht.

1) La Malaria secondo le nuove ricerche, 1a edizione Roma, Juli 1899.

Z. B. können die biologischen Faktoren sowohl auf den Menschen wie auf die Stechmücken wirken und einen verschiedenen Immunitätsgrad bei den einen wie bei den anderen verursachen; immer im biologischen Umkreis können die parasiticiden Faktoren beim Menschen (Chinin) wie bei den Stechmücken (vegetale Säfte?) die Hämosperiden zerstören oder abschwächen.

Nicht weniger zweideutig, eher vielleicht noch vollkommener mufs die Wirkung der physischen und sozialen Faktoren sein.

Die erste Formel mufs also mit dieser vorläufig ersetzt werden: Malariakranker Mensch + Anopheles + xyz = Malariaepidemie.

Das Studium dieser unbekannten Gröfsen ist zum Teil noch der Zukunft vorbehalten.

Zweiter Teil.

Malariaprophylaxis.

Die Malariaprophylaxis kann und mufs meiner Ansicht nach[1]) gegen die Krankheitserreger und gegen die prädisponierenden Ursachen gerichtet sein; da die Ursachen vielfältig sind, müssen auch die prophylaktischen Mafsregeln vielfältig sein, die man im einzelnen Fall und Ort wählen und anwenden kann. Im vergangenen Jahr beschäftigten wir uns, wie 1902, damit allein und vergleichend die Radikalkur der Rezidivfieber, die präepidemische Kur der vom Vorjahr her noch Malariakranken, die chemische Prophylaxis, die mechanische Prophylaxis, die Ausrottung der Stechmücken, die hydraulischen und agrarischen Assanierungen zu studieren.

Ich will hier kurz die Resultate unserer Studien berichten.

A. Radikalkur der Rezidivfieber.

Ich mufs einige pharmakologische Betrachtungen über das sogenannte rohe Chinin und über die antimalarische Wirkung der sekundären Alkaloide der Chinarinde vorausschicken.

1) La Malaria secondo le nuove ricerche, 1ª edizione, Roma, Juli 1899.

Es ist bekannt, dafs das rohe Chinin dadurch gewonnen wird, dafs die Chinarinde Schwefelsäure ausgesetzt wird. Es besteht daher aus einem Ganzen von Sulfaten der verschiedenen Chinaalkaloide, hat daher schon eine, Veränderungen ausgesetzte Zusammensetzung bei derselben Chinarindenart und noch vielmehr bei den verschiedenen Chinarindenarten; man kann daher bei uns den Gebrauch nicht empfehlen, obgleich es in Englisch-Indien viel angewendet wird und auch Giorgi und Pagani[1]) es vorteilhaft fanden.

Nach den Studien einiger Autoren und letzthin durch die unseres Mitgliedes F. Mariani kann man nicht mehr dasselbe von den sekundären Alkaloiden der Chinarinde behaupten. Sie haben, wenn auch nicht dieselbe Wirkung auf den menschlichen Organismus und auf die Blutparasiten wie das Chinin, so doch, was Qualität und Stärke der spezifischen Wirkung anbetrifft, eine nicht unähnliche, die der des Chinins nicht sehr nachsteht.

Auch haben nach Mariani Cinconin, Cinconidin und Chinidin eine unzweifelhafte therapeutische Wirkung auf die Unterbrechung der Fieberanfälle und ebensowenig wie das Chinin auf die Rezidive. Sie werden, wenn letzteres nicht so gut vertragen wird, selbst in der Schwangerschaft vertragen. Aus der ganzen medizinischen Literatur geht hervor, dafs sie nie zu Störungen Anlafs gegeben haben. Da der Preis des Chinins durch den hohen Grad der Absonderung, den die modernen Pharmakopöen verlangen, um 10—15 % wenigstens gesteigert wird, so beweisen die Beobachtungen Marianis nochmals, wie wissenschaftlich und praktisch unbegründet die Befürchtungen vor einer Mischung derselben mit dem Chinin sind, die den Preis des kostbaren Alkaloids, das zwar schon billig ist, merklich herabsetzen würde. Und warum sollte darauf verzichtet werden?

Aufserdem hat Mariani durch Fortsetzung seiner interessanten Studien über die Absorbierung und Absonderung der Chininsalze bestätigt, dafs aufser dem Chininum triidratum die unlöslichen Salze ebenso vollkommen absorbiert werden wie die löslichen. Die Anwesenheit von Speisen im Magen ist für die Absorbierung des Chinins zuträglich, nicht schädlich. Die Magen- und Darmschleimhäute absorbieren es gut und zwar immer vollkommen, wenn auch die Zeitdauer, die es in Anspruch nimmt, verschieden ist. Beim Gebrauch der gewöhnlichen sauren Lösungen zu Einspritzungen geht die Absorbierung weniger rasch vor sich, da sich das Chinin zwischen den Geweben deponiert, ist aber dauerhafter als pro os. Aufserdem hat Mariani bestätigt, dafs Chinin, wenn täglich verabreicht, im Blut bis zum Doppelten der täglichen Dosis gehäuft wird.

Was die Art der Zubereitung und Verabreichung des Chinins anbetrifft, müssen die Lösungen beiseite gelassen werden (Kochs und seiner Schüler Meinung entgegen), erstens weil sie ungemein bitter sind, zweitens weil die Löslichkeit in ihr nicht der besseren Absorbierung entspricht. Pulver mit Oblaten sind auf dem Lande bei grofsem Verbrauch sehr unbequem, ebenfalls die Kapseln (Capsulae operculatae).

1) Il Policlinico, sezione pratica, 1903.

Pillen werden mit der Zeit zu hart und werden deshalb langsamer absorbiert, ja, können unberührt passieren.

Wir haben seit nunmehr 3 Jahren die aufsen von einer Zuckerschicht bedeckten Chinintabletten gewählt. Wir liefsen es nicht bei den ersten Experimenten Jacoangelis und Marianis[1]), sondern baten letzteren, wegen der uns gemachten Einwendungen, neue Experimente anzustellen, um die Absorbierung der staatlichen Chinin bisulfat-Tabletten festzustellen. Es ging daraus hervor, dafs fast die ganze Quantität des Alkaloids absorbiert wird, also beinahe die ganze Dosis, die in den Tabletten enthalten ist. Aufserdem erleichtert die Anwesenheit von Speisen im Magen wie beim Chinin in Pulver die Absorbierung des Chinins in Tabletten, weil die Salzsäure des Magensaftes die Lösung des Alkaloids beeinflufst, weil vielleicht aber auch das Alkaloid lösliche Verbindungen mit den Verdauungsprodukten bildet und deshalb in geringerem Mafse zurückbehalten oder zerstört wird, wenn sie zusammen den interepathischen Kreislauf durchmachen.

Zu diesen günstigen physiologischen Bedingungen kommen die anderen Vorzüge der Tabletten hinzu: Die Dosis ist genauer festgestellt wie bei allen andern Einnehmearten und wird nicht mit der Zeit unter der Zuckerschicht verändert, aufserdem lassen sie sich gut in Schachteln usw. transportieren, ohne viel Platz fortzunehmen, und werden ohne Widerwillen eingenommen.

Es ist daher begreiflich, warum und weshalb unsere staatlichen Chinintabletten überall, wo sie hinkommen, bei Ärzten sowohl als beim Publikum Gefallen, beinahe Enthusiasmus, erregen.

Wir gebrauchten hauptsächlich Chinin bisulf. aufser dem Chinin hydrochlorat und bichlorydrat.

Obgleich rasche, eingreifende und langdauernde Kuren jetzt mit den verzuckerten Tabletten viel leichter durchzuführen sind als früher, stimmen alle unsere Mitglieder noch darin überein, dafs man hoffen darf, somit die Rezidive zu vermindern aber nicht auszurotten. Diesen Zweck erreicht man aber eher, wie wir später sehen werden, mit der prophylaktischen als mit der kurativen Behandlung. Die Chininbehandlung hat besonders, wenn sofort angewandt und längere Zeit fortgesetzt, eine günstige Wirkung, um Rückfälle und bis zu einem gewissen Grade auch die Rezidive nach kurzen Zwischenräumen zu beeinträchtigen. Leider gelingt es aber nicht immer, das Ausbrechen der Rezidive nach längerer Zeit zu verhindern, wenngleich die tägliche prophylaktische Dosis die Anfälle abschwächt und abkürzt. Wir müssen uns also hauptsächlich be-

1) Dieses Archiv, Bd. 48.

mühen, von Jahr zu Jahr die Rezidive auf ein Minimum zu reduzieren. An Orten mit schwerer Malaria kann man sie bereits im ersten Jahr von 80—90 auf 20% reduzieren.

Mehr können wir vorläufig nicht erreichen, nicht einmal, wenn wir statt bisulf. hydrochlorat oder bichlorydrat gebrauchen, oder die kurative Dosis erhöhen, oder 1 Monat hindurch Chinininjektionen machen.

Wir können also bestätigen, dafs die Rezidive nach langen Zwischenräumen jeder noch so intensiven und langen Chininbehandlung widerstehen.

Man erhält nicht etwa bessere Resultate, wenn man, wie Grassi behauptet, Eisen und Arsenik hinzufügt.

Leider verhindert nicht einmal die Chininbehandlung mit Eisen und Arsenik die Rezidive.

Dr. Gobbato[1]) und einige unserer Mitarbeiter bestätigen nochmals, dafs ebenso wirksam wie Chinin, Eisen nnd Arsenik das Staatschinin zur Bekämpfung der Malaria ist (d. h. alle beide nur bis zu einem gewissen Grade). Daraus geht hervor, dafs die gute Wirkung immer von dem spezifischen Heilmittel abhängt und nicht von den Zutaten Eisen und Arsenik.

Nach Mariotti-Bianchi ist auch das Arsenik in organischen Verbindungen, wie Metilarsenat binatricum (Arrhenal) nicht fähig, Fieberanfälle, wie Gauthier[2]) behauptet, abzuschneiden.

Es wurde aufserdem bewiesen, dafs Arsenik weder auf Gameten noch auf Sporozoiten zerstörend wirkt, während Chinin eine zerstörende Wirkung gerade auf Sporozoiten und dann abnehmend auf die fiebererregenden Formen bis auf die Rezidiv erregenden und endlich auf die sekundären Formen ausübt.

Wenn man also beiseite läfst, dafs Metilarsenat ebenso wie Cacodilat und das bekannte Liquidum Fowler in vielen Fällen schwerer Anämie und postmalarischer Kachexie als Kräftigungsmittel dient, hat Arsenik allein (in welcher Form es auch sei) keinen Wert als direktes antimalarisches Heilmittel.

Wir müssen also definitiv daraus schliefsen, dafs man immer die Rezidive mit Chinin behandeln mufs. Gute Ernährung wäre natürlich auch am Platz, die leider oft nicht möglich ist. Der Arzt selbst mufs im einzelnen Fall beurteilen, ob und in wie weit er die sogenannten Kräftigungsmittel, deren es so viele von verschiedensten Formen gibt, zum Chinin hinzufügen kann. Ich

1) Die Malaria in Penteposseero ed Uniti (Podere Ponti), Verona, 1903.
2) Académie des Sciences, 1902.

rate besonders den Armenärzten ruhig die billigen Präparate anzuwenden, deren es sehr viele gibt, und sie zu anderen Tageszeiten als Chinin zu verabreichen. Dies ist für den Magen und zur Absorbierung des Chinins besser, da letzteres durch die Verbindung mit Arsenik erschwert wird.

B. Behandlung der Malariarezidive oder latenten Malaria in der präepidemischen Zeit.

Es ist bekannt, dafs diese Art der Malariabekämpfung unter dem Namen Kochsche Methode verbreitet ist.

Schon in meinem früheren Bericht hatte ich Gelegenheit, die Schattenseiten und die Mifserfolge hervorzuheben, die sich ihr praktisch entgegenstellen.

Die Schattenseiten sind:

Schwierigkeit und oft Unmöglichkeit der Diagnose der latenten Malaria.

Erhebliche Unkosten, die durch die Arbeit der Spezialärzte und durch die zu verabreichenden grofsen Mengen Chinins erwachsen, da letzteres reichlich und lange verabreicht werden mufs.

Widerwillen vieler vor einer so intensiven Behandlung, wonach sie dann zur Epidemiezeit die Kur unregelmäfsig oder gar nicht mehr gebrauchen wollen.

Unmöglichkeit, mit irgend welcher Behandlung die Rezidive und die latente Malaria auszurotten.

Widerstand der Gameten der schweren Tertiana (Martirano und Gualdi), aber auch der leichten Tertiana (Schoo und Schaudin) dem Chinin gegenüber.

Es ist daher nicht wunderbar, dafs, wie schon 1902, auch 1903 Mifserfolge mit der Kochschen Methode nicht nur allein bei uns, sondern auch in Holland, Österreich und Frankreich zu verzeichnen sind.

Bertarelli[2]) behandelte in Turin, also in einer Gegend mit sehr leichter Malaria, die Rezidive in der präepidemischen Zeit sehr energisch zweimal wöchentlich, während die ursprüngliche Kochsche Methode darin besteht, Chinin alle 8—9 Tage oder alle 9—10 Tage einzunehmen. Er fuhr aufserdem mit der zweimal wöchentlichen Behandlung aller Malariakranken während der Epidemiezeit fort. Tatsächlich rezidivierte nur einer von den 83 auf diese Weise Behandelten, aber es kamen 15 neue Erkrankungen vor (von denen 10 bestimmt frische Infektionen waren), d. h. kaum der vierte Teil weniger als im Vorjahre, also zu wenig im Vergleich zu den Bemühungen und dem Kostenaufwand.

1) Dieses Archiv, Bd. 48.

2) Unsere Akten, 5. Bd., 1904.

Kortweg[1]) beobachtete im Dorfe Wormeveer in Holland, dafs, obgleich alle Malariakranken pünktlich nach der Kochschen Methode Frühjahr, Sommer und Herbst hindurch Chinin genommen hatten, die neue Epidemie ihren ungestörten Verlauf nahm. Lenz[2]) fuhr auf der Insel Brioni grande mit der von Koch und seinen Schülern (1900/02) gebrauchten Methode fort; aber er mufste sich überzeugen, dafs nach Beendigung der präepidemischen Behandlung im Juni verschiedene Personen an frischer Malaria erkrankten.

In der Vendée und genauer in Saint Philbert de Grand-Lieu gelangten die Brüder Sergent mit der Kochschen Methode zu keinen günstigen Resultaten[3]).

Aufser dafs die präepidemische Behandlung schlecht vertragen wird und teuer ist, ist sie an und für sich ungenügend, um das Ausbrechen der neuen Epidemie zu verhindern. Ich bestehe also darauf, dafs sie unterlassen werden kann oder wenigstens auf ein Minimum beschränkt, d. h. bei denen, die am meisten den habitus malaricus haben, rate ich, vor Ausbruch der Epidemie die prophylaktische Behandlung mit kurativen Dosen zu beginnen (5—8 Tabletten), dies 10 Tage lang fortzusetzen und dann drei statt zwei Tabletten täglich zu verabreichen; besser ist es, in diesem Falle Chinin hydrochl. zu gebrauchen.

C. Chemische Prophylaxis.

Alle unsere Studienstationen und auch die österreichischen an der Küste des Adriatischen Meeres wendeten die von mir vorgeschlagene chemische Prophylaxis an, die sich im allgemeinen auf die Epidemiezeit beschränkt und folgendermafsen ist:

a) Tägliche Chininbehandlung (zwei Tabletten Chinin bisulf. oder hydrochlorat — 40 cg —, Kinder unter 10 Jahren die Hälfte) aller Bewohner eines Malariaortes; nur in den Fällen, wo dies nicht möglich ist, zweimal wöchentliche Behandlung (Sonnabend und Sonntag) mit therapeutischen Dosen (fünf Tabletten, 1 g, pro Abend, Kindern die Hälfte).

1) Deutsche med. Wochenschr., Nr. 46, 47, 1903.
2) Wiener klin. Wochenschr., Nr. 1, 1904.
3) Unsere Akten, 5. Bd.

b) Chininbehandlung mit therapeutischen Dosen (6—8 Tabletten, Kindern die Hälfte) 7—8 Tage lang, im Falle frischer Infektionen oder Rezidive bei den prophylaktisch Behandelten, darauf Fortsetzung der oben beschriebenen täglichen Behandlung.

Diese Methode ist die einfachste und jedem zugänglich. Die systematische Blutuntersuchung ist dabei nicht nötig. Es braucht nur dazu gegriffen zu werden, wenn die klinisch-therapeutische Diagnose nicht genügt. Spezialärzte sind also überflüssig, ein intelligenter und gewissenhafter Oberaufseher, Inspektor etc. unter ärztlicher Anleitung genügt zur Ausführung.

Das spezifische Mittel in Tabletten ist so vorzüglich zubereitet, dafs es, ohne Widerwillen zu erregen, hinuntergeschluckt wird. Ärzte und Apotheker sind ebenfalls zur Austeilung nicht unumgänglich notwendig.

Jetzt, wo diese Methode sich immer mehr verbreitet, kann ich einige Anmerkungen nicht unterlassen.

Die Vorurteile gegen den prophylaktischen Chiningebrauch sind alt und noch nicht ganz überwunden; selbst eine Autorität wie Rofs[1]) hält sie noch aufrecht. Erst jetzt, nachdem sie unsere Erfolge kennen, fangen einige englische Ärzte, wie James[2]), an, daran zu glauben. Der Widerwillen vor dem bitteren Geschmack machte auch zuletzt die Tapfersten abspenstig.

Anderseits wurde die Chininprophylaxis mit so kleinen Dosen angestellt oder mit so wenig geeigneten Präparaten (Rosolen, Chinawein usw.) und mit so ungewissen Methoden, dafs sie selbst beim Heer[3]), wo sie am besten geglückt war, wenig Kredit errungen hatte.

Während meiner ersten Studien[4]) zur Erlangung einer künstlichen Immunität bei Malaria, nachdem ich vergebliche Versuche mit der Serumtherapie und Opotherapie angestellt hatte, griff ich zu den sog. Chininersätzen, mit denen ich wenig oder gar keine Wirkung erzielte. Darauf dachte ich, die wenigst widerwärtigen Formen der Chininsalze, die im Handel sind, anzuwenden und fing mit dem Äthylkarbonat (Euchinin), das Kindern verordnet wird, an, indem ich es noch mit etwas Saccharin mischen liefs. Nachdem die

1) Congrès International d'Hygiene etc., Bruxelles, 1903.

2) Scientific. memoirs of the Government of India, Calcutta, 1903.

3) Conf. A. Laveran, Profilaxie du paludisme, Paris, Masson u. Cie.

4) Dieses Archiv, Bd. 40.

ersten experimentellen Versuche 1899 (auch mit Chininhydrochlorat) günstig ausgefallen waren, begann ich den Bauern täglich eine ziemlich starke Dosis (50 g) Chinin hydrochlorat, das sehr viel Chinin enthält, zu geben[1]). Die prophylaktische Wirkung war gewifs, und es wurde besser, als wir zu hoffen wagten, vertragen.

Im nächsten Jahre wendete ich bei den Bauern des unteren Aniotales ein billigeres Chininsalz (Chinin bisulphuric.), das zwar weniger reich an Alkaloiden ist, in grofsen täglichen Dosen (50—60 cg) an. Es wurde ausgezeichnet vertragen, und die prophylaktischen und therapeutischen Erfolge waren vorzüglich.

Dann trat uns die Frage entgegen, wie kann der Preis des Chinins erheblich erniedrigt und es in angenehmerer Weise zubereitet werden, damit der prophylaktische Gebrauch verallgemeinert werden könnte? Die erste Frage löste ich, indem ich die Gesetze: Staatschinin (Gesetz, 23. Dezember 1900) und die obligatorische unentgeltliche Verteilung unter die Arbeiter (Gesetz, 2. November 1901 und 19 Mai 1904) vorschlug; die zweite Frage dadurch, dafs ich es durchsetzte, dafs die Staatschinintabletten, ohne darum im Preise zu steigen, äufserlich verzuckert wurden. Ehe die Gesetze in Kraft traten, im Sommer und Herbst 1901, wendeten wir mit ähnlich gutem Erfolge Tabletten verschiedener Chininsalze an.

Es hiefs nun zwischen den beiden auf dem Lande einzig möglichen Arten der Chininbehandlung wählen: Die tägliche oder die zweimal wöchentliche (Sonnabend und Sonntag) und die resp. nötige Minimaldosis festzustellen. Aus vielen Experimenten (1902) Prof. Gosios in Grosseto und unserer Mitglieder in den verschiedenen Teilen Italiens geht hervor, dafs, obgleich die Chininquantität wöchentlich dieselbe oder beinahe dieselbe war (2 g ca. pro Person, Kinder die Hälfte), weniger Beschwerden (Ohrensausen) bei der täglichen Behandlung wahrzunehmen, und dafs die hygienischen Erfolge auch günstiger waren.

Dazu kamen noch die Studien, die Mariani unter meiner Leitung anstellte, aus denen die Tatsache der Häufung des Chinins im Blute bei täglichem Gebrauch hervorging, so dafs man bei derselben Auslage die Wirkung verdoppeln konnte und einige Unbequemlichkeiten des Gebrauches mit Unterbrechungen vermeiden konnte. Bei letzterem ist während einiger Zeit im Blut kein Chinin vorhanden, was durch den darauffolgenden Eintritt der therapeutischen wöchentlichen Dosen nicht ersetzt wird. Der Chininvorrat ist immer nur vorübergehend, und ist im Maximum nur wenig höher als die durch täglich prophylaktischen Gebrauch bewirkte Häufung.

Alle unsere Mitglieder lobten einstimmig den vollkommenen Mitridatismus, den das täglich eingenommene Chinin hervorruft.

Diese vollkommene Gewöhnung des Organismus an Chinin ohne irgend welche Beschwerden, die bei Unterbrechung andere mitridatische Gifte

1) Meine Mitarbeiter waren hierbei: Prof. Di Mattei (Catania), Dr. Mori (Campiglia Marittima), Ficacci (Sezze), Barone (Paludi Pontine).

hervorrufen, bot den besten wissenschaftlichen und praktischen Grund zur Anwendung der täglichen Methode [1]).

Bis jetzt sind noch wenige von der vollkommenen Unschädlichkeit dieser Methode überzeugt.

Noch vor kurzem schlofs ein Bericht auf dem Madrider Kongrefs über Malariaätiologie und Prophylaxis mit folgenden Worten: Die Prophylaxis wird nicht eher vollkommen sein, bis die Latifundien nicht geteilt und assaniert sein werden und es dem Menschen vergönnt sein wird, das Feld zu bebauen, ohne geharnischt zu sein oder vergiftet zu werden [2]).

Obgleich eine unleugbare Wahrheit in diesen Worten enthalten ist, die wir noch weit entfernt sind zu erreichen, ist es doch als eine Übertreibung anzusehen, dafs die Malariaprophylaxis mittels Chinin nur durch Vergiftung zu erreichen ist.

Nur ein unrationeller Gebrauch (starke Dosen nach längeren Zwischenräumen) können toxische Erscheinungen hervorrufen, die bei täglichem geringerem Gebrauch vermieden werden. Diese rufen nicht nur Mitridatismus hervor, sondern (und dies ist von grofser Wichtigkeit) kräftigen und nähren auch. Dies stimmt mit dem überein, was man über die Wirkung des Chinins auf den Stoffwechsel weifs, dafs nämlich Chinin den Oxydationsprozefs vermindert mit Ersparnis von Kohlenhydraten und besonders von Stickstoffverbrauch.

Wir wissen aber nicht, ob die Verminderung der Stickstoffausscheidung durch den Harn, die alle, die sich damit beschäftigt haben, gefunden haben, vorübergehend ist, und wie es sich damit bei mehrere Monate langem Chiningebrauch verhält. Auf jeden Fall ist die Nahrung unserer Bauern so arm an Albumin, dafs die Stickstoffbilanz nicht immer erreicht wird, so dafs eine noch so geringe Ersparnis des zirkulierenden und protoplasmatischen Eiweifses an und für sich schon von grofsem Werte ist.

Chinin ist also nicht nur ein gutes Präventivmittel bei einer Krankheit, die stets schwer auftritt, teils durch die Schwere der Krankheit selbst oder ihrer Dauer, sondern auch ein Ersparnismittel [3]).

---

1) Dr. R. Pöch versuchte 1 g Chinin jeden fünften Tag in Senegambien und in Neu-Guinea als Prophylaktikum zu geben, er mufste es abends geben, um die vom Chinin hervorgerufenen Beschwerden zu vermindern, trotzdem vertrugen es viele nicht und konnten am darauffolgenden Tage nicht arbeiten; er gab daraufhin alle 4 Tage $1/2$ g. (Archiv f. Schiffs- und Tropenhygiene, Vol. VII, 1903.)

Ich begreife nicht, warum Stefens und Christofers (Thompson, Jates Laboratories, Report., Vol. V, 1903) den unterbrochenen Chiningebrauch vorziehen.

Meiner Meinung nach ist auch in den Tropen wie in unseren heifsen Ortschaften der tägliche Gebrauch vorzuziehen; auf jeden Fall wäre auch dort ein vergleichendes Studium sehr interessant.

2) Policlinico, sezione pratica anno, IX, fasc. 33.

3) Siehe die Arbeiten von Böck und Bauer, Bufs, Ranke, Zuntz, Kerner und Prior.

Die Malariaprophylaxis mittels Chinin wird also nicht durch Intoxikation oder ähnliche geringere Übel erreicht, wie viele behaupten, sondern hat auch einige Vorteile (Anregung des Verdauungsapparates und der Muskeln, Ersparnis der Nährstoffe), die vom Hygieniker nicht übersehen werden dürfen.

Während diese Vorzüge des Chinins hervortraten, mufsten noch andere im Volk und bei den Ärzten verbreitete Vorurteile beseitigt werden. Daraus ging hervor:

1. **Dafs Chinin, als Prophylaktikum angewendet, die kurative Wirkung nicht nur nicht beeinträchtigt, sondern sie sogar hebt;** wenn bei einem regelmäfsig prophylaktisch behandelten Individuum ein frischer oder Rezidivfieberanfall ausbricht, so ist dieser nie schwer und weicht den therapeutischen Chinindosen rascher.

Tabelle I. (Zu S. 108.) **Chemische Prophylaxis**

Ortschaften, wo die Prophylaxis angewendet wurde	Angewendete Medizinalien	Zeitdauer der Behandlung	Zahl d. behandelten Personen	Rezidiv-kranke	Prozent
Camisano Vicentino	Chinin bisulf.	Juli—November	18	—	—
Provinz Verona	Detto	Detto	728	67	13,8
Römische Campagna (Stadt Rom)	Detto	Detto	9415		
Römische Campagna (rotes Kreuz)	Detto	Detto	7853	200	3,0
Römische Campagna (unsere Gesellschaft)	Detto	Detto	238	7	2,9
Foro Appio	Detto	Oktober—Dezember	492	114	23
Trinitapoli	Chinin bisulf. u. hydrochl.	Juli—November	20	5	20
Bovino (Foggia)	Chinin bisulf.	Detto	60	17	56,6
Atella (Potenza)	Chinin bichl.	April—Oktober	20	—	—
Monticchio (Potenza)	Detto	September-Oktober	17		4 =
Gaudiano (Potenza)	Chinin bisulf. u. bichlor.	Juli—November	35	—	—
Miniera Prato (Kalabrien)	Chinin bisulf.	Oktober—November	51	1	1,9
Strongoli (Kalabrien)	Detto	Juli—November	23		4 =
Tuturano (Lecce)	Detto	Juni—November	51		9 =
			19021 Kranke		932

2. Dafs die sogen. Kräftigungsmittel, wie Eisen und Arsenik, keine bemerkenswerte prophylaktische Wirkung ausüben. Sie sind deshalb überflüssig, auch wenn sie zu der für ihre Verabreichung ungeeigneten Fieberzeit gut vertragen werden.

Es war also nicht richtig und nicht überall am Platze, die Vorurteile vor dem Chinin durch Namensänderung noch zu erhöhen, und es war ebenfalls nicht wissenschaftlich begründet noch praktisch, in allem und jedem Falle ohne ärztliches Urteil Pillenmischungen einzugeben, die, wenn sie wirken, wegen des darin enthaltenen Chinins wirken.

Ich habe heifse Kämpfe gegen Privatinteressen und Vorurteile aushalten müssen. Dabei bediente ich mich weniger der Feder, als dafs ich die Tatsachen für mich reden liefs, indem ich in den verschiedensten Teilen Italiens mit Hilfe der dortigen Ärzte so und soviel Untersuchungsstationen

mittels Chininsalzen. Tabelle I. (Zu S. 108.)

Neuerkrankungen	Prozent	Prozent der Kontrolle	Täglich verabreichte Dosis	Behandelnde Ärzte	Kontrolle
2	11	—	cg 40	Dr Omizzolo	Von den zehn Personen, die zur Kontrolle dienten, erkrankten alle.
3	1,2	38	40	Dr. Ambrosi, Provinzialarzt u die Armenärzte	487 Kranke, 241 Gesundgebliebene.
588 = 6,2 %			40	Prof. Gnaldi u. die Armenärzte	—
20	0,98	ziemlich schwere Malaria	20—40	Prof. Postempsky und die Ärzte vom roten Kreuz	5820 Kranke, 2033 Gesundgebliebene.
1	0,42		—	Dr. Bosinelli	—
15	2,3		40—60	Dr. Mariani	95 Kranke, 397 Gesundgebliebene.
—	—	85	40	Dr. Labranca	Alle 20 Erkrankten.
7	23,3	83—86	40	Dr. Nicastro	30 Gesundgebliebene, 30 Kranke.
—	—	90	40—60	Dr. Tecce	20 Kranke.
24%		75	40	Dr. Andretta	—
—	—	—	—	Herr E. Fortunato	—
—	—	70	40	Dr. Dechiara	27 Gesundgebliebene, 24 Kranke.
20%		—	40	Dr. Palaggi	—
17%		90	40	Dr. Tanzarella	Alle erkrankt.

= 5,6%.

einrichtete. Von Jahr zu Jahr nahm die Zahl der Ungläubigen und Gleichgültigen ab, die freiwillig als Kontrolle dienten, und die selbstsüchtigen Interessen liefsen nach.

Die chemische Chininprophylaxis mittels täglichem Gebrauch der Staatschinintabletten hat gröfstes Vertrauen bei Bauern und Landarbeitern erworben.

Ich fasse in Tabelle I S. 106 und 107 die 1903 erhaltenen Resultate zusammen.

Aus dieser Tabelle geht hervor, dafs auch an Orten mit schwerer Malaria die Chininprophylaxis, bei 19021 Personen angewandt, die frischen Infektionen und Rezidive zusammen auf 5,6% beschränkt hat.

Diese Prophylaxis hat also auch den Vorteil, die Rezidive zu vermindern, und wenn trotz des täglichen Chiningebrauchs ein Fieberanfall vorkommt, so ist dieser leicht und kurz und hört rasch nach Behandlung mit therapeutischen Dosen auf. Aufserdem werden die frischen Infektionen auf ein Minimum beschränkt. Auf zwei Arten führt diese Prophylaxis also zu günstigen, sofortigen Resultaten, zu denen man auf keine andere Art und Weise bei der Malariabekämpfung gelangen kann.

Wie in der römischen Campagna, wo die Prophylaxis zuerst angewendet wurde, und zwar von unserer Gesellschaft dem Roten Kreuz und den Armenärzten, hatten wir von 1900 an:

Tabelle II.

	1900	1901	1902	1903
Summe der prophylaktisch behandelten Personen .	—	1 176	3 852	17 506
Zahl d. frischen vom Roten Kreuz behandelten Infektionen	1 716 (17 %)	1 263 (16 %)	764 (7 %)	320 (2 %)
Zahl der in S. Spirito aufgenommenen Malariakranken	6 186	4 752	2 750	2 461

Mit der Ausbreitung dieser Prophylaxis ist die Zahl der frischen Infektionen von 17 auf 2% beschränkt worden und gleichzeitig die Zahl der Kranken in Santo Spirito von 6186 auf 2461 gesunken, wie nie seit 1892, d. h. seitdem eine regelmäfsige Sanitätsstatistik in unserm gröfsten Hospital vorhanden ist.

Wenn auch seit 1900 die Malaria spontan im Abnehmen begriffen ist, so ist doch nicht zu leugnen, dafs unsere prophylaktische Behandlung dazu beigetragen hat, die Zahl der Malariafälle zu vermindern.

Auch im Heer ist die Malaria in fortschreitender Abnahme begriffen, seitdem intensive Behandlung und präventive Chininbehandlung immer mehr eingeführt wurden.[1])

Z. B. war die Zahl der frischen Infektionen in unserem Militärhospital von 1889 an immer so hoch wie in den drei Jahren 1898—1900 (siehe Tabelle).

Während in den letzten drei Jahren ihre Zahl merklich abgenommen hat und unter 100 geblieben ist, haben in den letzten zwei Jahren auch die Rezidive über die Hälfte abgenommen.

Tabelle III.

Im Jahre	Fieber			
	Rezidive		frische Infektionen	
	Im ganzen	Im Durchschnitt	im ganzen	im Durchschnitt
1898	404	424	312	265
1899	332		219	
1900	516		264	
1901	444		94	91
1902	229	192	92	
1903	155		87	

Meine prophylaktische Methode mittels täglicher mittlerer Chinindosen in verzuckerten Tabletten eignet sich auch in anderen Fällen.

1) Siehe Bericht des Generalarztes Chiaiso, Band V unserer Akten. Die mechanische Prophylaxis bei den Truppen ist nur beschränkt in den Forts der römischen Campagna angewendet worden.

Z. B. kann man sie in Gegenden mit leichter Malaria, besonders bei der ansässigen Bevölkerung, auf die vom Fieber Befallenen beschränken, nachdem sie sofort mindestens eine Woche lang behandelt worden sind, um Rezidive während der ganzen Malariazeit zu verhindern oder zu mildern.

An Orten mit schwerer Malaria sind Chininhydrochlorattabletten vorzuziehen und den Anämischen drei statt zwei zu geben.

Auch können die Auslagen vermindert werden. Vielleicht kann der Staat in nicht allzu langer Zeit, wenn die jetzigen Handelsbedingungen andauern, das Chinin bisulf. und hydrochl. noch billiger verkaufen. Und wenn, wie ich hoffe, die Reinheit des Chinins nicht mehr so übertrieben wird, wie es die offizielle Pharmakopöe verlangt, und wenigstens zu prophylaktischen Zwecken die Nebenalkaloide des Chinins angewendet werden könnten, so würde ohne weiteres die tägliche Auslage der Prophylaxis mit Chinin bisulf. pro Erwachsenen 1½ ctm betragen, also 45 ctms monatlich und wenig mehr als 1,90 Lire für die 4 Monate, die gewöhnlich die Malariazeit bei uns dauert.[1])

In meinem vorangegangenen Bericht schrieb ich, dafs dieser Prophylaxis eine grofse Zukunft vorbehalten sei. Sie hat sofort die in folgender Tabelle angegebenen Fortschritte gemacht:

Tabelle IV.

Im Jahr	Zahl der behandelten Personen	Prozentsatz der frischen Infektionen und Rezidive
1901	531[2])	5,0
1902	3 055	7,7
1903	19 021	5,6

1) In Korsika wird das Chinin vom Staat aus zu 15 ctms 1 g Chinin sulf. verkauft. In Algier zu 45 ctms, aber in Pulvern, nicht dosiert in Tuben zu 10 g. Wie in Italien wird auch in Österreich und Algier das Staatschinin in den Militärapotheken zubereitet.

2) 925 von den Ärzten des Roten Kreuzes behandelte Personen sind nicht einbegriffen.

Ich hoffe, dafs zur nächsten Malariazeit mit dem jedermann zu Vorzugspreisen zugänglichen Staatschinin in Tabletten die Prophylaxis sich immer mehr ausbreiten wird, um die Stelle, die ihr zukommt einzunehmen.

Dem einstimmigen Lob der italienischen Ärzte und Patienten entsprach das vorzügliche Resultat, das auch an der österreichischen Küste des Adriatischen Meeres Dr. De Celebrini und seine Mitarbeiter damit erreichten. Von den 3196 Behandelten erkrankten nur 6,1 % Rezidive und frische Infektionen zusammen.

Die Doktoren Battesti und Michon bestätigten, dafs auch in Korsika das täglich genommene Chinin sehr gut vertragen wurde. Der tägliche Chiningebrauch zu prophylaktischen Zwecken wird in den französischen Kolonien mit ausgezeichneten Resultaten immer mehr ausgebreitet [1].

Ich bin deshalb auch fest überzeugt, dafs er auch in den Tropen viel Anwendung finden wird; denn überall wird es ihm gelingen, eingebürgerte Vorurteile und unbegründetes Mifstrauen zu überwinden.

Die Chininprophylaxis wird bei denjenigen, die in ungeschützten Häusern wohnen (und das ist die Mehrzahl), und die des Nachts oder in für Malaria gefährlichen Stunden arbeiten müssen, ein gewöhnliches Gebrauchsmittel werden. Sie kann aufserdem bei der Bodenassanierung als Ergänzungsmittel dienen, da sie gestattet, diese auch in der ungesunden Jahreszeit auszuführen, da sie Leben und Gesundheit der Arbeiter zu bewahren hilft.

Dadurch braucht man auch diese Art der Arbeiten nicht zu übereilen, sondern sie erst ordentlich durcharbeiten ev. von oben mit Wälderanpflanzung und Regulierung der Gewässer beginnen und nicht von unten, wo man oft genug unnütz arbeitet. Auch wo die Assanierungsarbeiten mit grofsen Schwierigkeiten verknüpft sind oder sehr lange dauern, wenn der hydraulischen Assanierung die agrarische folgt, ist die medikamentöse Prophylaxis eine der besten praktischen Waffen im Kampfe gegen die Malaria.

1) Billet, Band V unserer Akten.

D. Mechanische Prophylaxis.

Diese von mir zuerst 1899 praktisch angewandte Methode hat sich auch im Ausland, in Korsika, Algier usw., bewährt. Sie wird am besten da angewendet, wo wir sie für am angebrachtesteu erklärten, d. h. in Wohnungen der Eisenbahnbeamten, der Steuerbeamten, der Strafsen- und Assanierungswächter, der bei öffentlichen Arbeiten beschäftigten Arbeiter, und allen den Leuten, die auf dem Lande wohnen und imstande sind, die nötigen hygienischen Mafsregeln zu befolgen.

Schwieriger ist es, sie in Kasernen und Bauernhäusern anzuwenden, selbst hier in der römischen Campagna, wo das lokale Hygienereglement es verlangt, kann nicht darauf mit grofser Strenge bestanden werden, vielmehr wird jetzt viel auf die oben erwähnte Chininprophylaxis gesehen.

Wie in den vergangeneu Jahren, hat diese Prophylaxis auch dieses Jahr, da wo sie ordentlich angewendet werden konnte und die nötigeu Mafsregeln befolgt worden sind, zu günstigen Resultaten geführt.

(Siehe Tabelle V auf S. 113.)

Es geht also nochmals daraus hervor, dafs die Zahl der frischen Infektionen mittels der mechanischen Prophylaxis sehr vermindert, ja auf ein Minimum beschränkt wird. Die Zahl der Rezidive bleibt aber im allgemeinen hoch, wenn sie auch im Vergleich abnehmen, da durch Vermeidung frischer Stiche die Pseudorezidive, die als Rezidive angesehen werden, aufhören, und da ebenfalls die Rezidive geeigneter behandelt werdeu.

Wenn wir die Auslagen vorerst nicht vergleichen, so sind im allgemeinen die Resultate mittels der mechanischeu Prophylaxis minder günstig als mittels der chemischen.

Tabelle V.

Mechanische Prophylaxis.

Ortschaften, wo die Prophylaxis angewendet wurde	Zahl der Geschützten	Rezidiverkrankungen	Prozent	Neuerkrankungen	Prozent	Kontrolle	Unter Aufsicht von	Beobachtungen
Provinz Verona	183	—	—	13	7,1	38,0	Provinzialarzt Ambrosi und Armenärzte	Einige Häuser waren nur teilweise geschützt (d. h. nur die Schlafzimmer).
Argenta (Ferrara)	236	—	—	6	2,5	10,0	Dr. Orta	—
Eisenbahngesellschaft Adriatica	5610	—	42,5	58	1,03	—	Dr. Ricchi	Die Schutzvorrichtungen waren auf 1707 km angewendet. Im übrigen wurde die Prophylaxis mittels Chinin angewandt.
Eisenbahngesellschaft Sicula	1564	184 = 11,76 %				23 bis 31 %	Dr. Fontana	—
Eisenbahngesellschaft Sicula occidentale	637	16	2,5	17	2,07	—	Ing. Sbacchi	—
Im ganzen	8230	% Neuerkrankungen 1,03—7,1; % Rezidive . . . 2,5—42,5.						

Ich halte es nicht einmal für gewifs, dafs sie praktisch, wie Dr. Battesti[1]) meint, der chemischen vorzuziehen sei, der erstere für praktischer hält, da sie einfacher sei.

Die gut angebrachten mechanischen Schutzvorrichtungen[2]) berauben dem Hause weder Luft noch Licht, bewahren es hingegen in Sumpfgegenden vor dem lästigen Eindringen aller Insekten und der Stechmücken, die am Schlafen hindern.

An Malariaorten ist es also immer geeignet, sie da, wo es angeht, aus diesen indirekten hygienischen Gründen, aber hauptsächlich als Schutz vor dem Fieber anzuwenden. Die Generalzolldirektion, die die mechanische Prophylaxis von 1901 ab jetzt 8000 Zollbeamten zugute kommen läfst und dadurch die Zahl der Malariakranken von 5 auf 1 reduziert[3]) hat, hat die Absicht, sie auf alle Malariaorte auszudehnen. Die Eisenbahngesellschaft »Rete adriatica« wandte sie 1901 bei 1000 Personen, 1902 bei 3051, 1903 bei 5610 an und beschränkte so die Zahl der frischen Infektionen auf 2, 1,29, 1,03%.

Die Eisenbahngesellschaft »Sicula occidentale« wandte sie 1901 bei 66, 1902 bei 514, 1903 bei 637 Personen an und beschränkte die frischen Infektionen auf diese Weise auf 3,7, 2,7%. Diese Gesellschaft vervollkommnet jetzt die mechanische Prophylaxis durch die chemische, indem sie letztere bei dem ganzen Personal braucht, das Nachtdienst tut.

Mit dieser gemischten Prophylaxis hat die Eisenbahngesellschaft »Rete adriatica« im vergangenen Jahre 21 667 Beamte vor Malariainfektionen bewahrt. Es ist ihr auf diese Art gelungen, dafs die durch Malaria verlorenen Arbeitstage weniger als 2 pro Beamten waren. 29 146 Unterstützungsgelder konnten erspart werden, die Auslagen für Vertretungen des an Malaria erkrankten Personals wurde um $\frac{2}{3}$ beschränkt (diese Auslage betrug durchschnittlich jährlich 619 262 Frs.). Obgleich die Ge-

1) Siehe Bericht Dr. Billet, Band V unserer Akten.

2) Siehe die Schutzvorrichtungen auf der Eisenbahnlinie Sicula occidentale. Bericht des Ingen. Shacchi, Band V unserer Akten.

3) Im Kreis Rom allein, wo früher die Zahl der im Militärhospital behandelten Zollbeamten jährlich 30—40 betrug, betrug sie 1901 nur fünf, 1902 zwölf, 1903 acht.

sellschaft an alle Beamten und ihre Familien unentgeltlich Chinin austeilte, hat sie für 21667 Beamte weniger als 1 Frs. pro Person ausgegeben, ebensoviel als sie vor der neuen Prophylaxis für die schlechte Behandlung nach der alten Methode von 5000 Beamten ausgab. Der Gewinn der Gesellschaft »Sicula occidentale« geht schon aus folgender Tabelle hervor.

Tabelle VI.

Im Jahre	Eisenbahnpersonal		Malaria-fälle	Krankheits tage
	im ganzen	Zahl der geschützten Personen		
1898	666	0	215	2667
1899	677	0	267	2745
1900	664	0	386	4492
1901	647	66	497	5661
1902	633	514	193	2374
1903	652	637	132	932

Die fortschreitende Zunahme der geschützten Personen hatte eine fortschreitende Abnahme der Malariafälle und der relativen Krankheitstage zur Folge. 1903 war das Budget durch Anwendung der mechanischen Prophylaxis folgendes:

Auslagen 9981 Frs.
Ersparnisse 12494 »
Reingewinn 2613 Frs. = 24,20 Frs. pro km.

Ich habe diese beiden Gesellschaften als Beispiel dafür angeführt, dafs die Anwendung der neuen antimalarischen Prophylaxis nicht nur ein gutes, sondern auch ein einträgliches Werk ist.

E. Stechmückenausrottung.

Prof. Galli-Valerio und J. Rochaz de Jongh haben ihre Untersuchungen über die Biologie der Culiziden fortgesetzt und bestätigten immer mehr die grofse Lebensfähigkeit dieser Insekten und die Schwierigkeit, sie auszurotten. Der schon bekannten culiziden Substanz ist noch das Saprol hinzuzufügen.

In Algier haben die Gebrüder Sergent an den Häusern Schutzvorrichtungen anbringen lassen und gleichzeitig die Stechmücken in den kleinen Sümpfen der Eisenbahn entlang ausgerottet. Es ist schwer zu entscheiden, welcher der beiden prophylaktischen Mafsregeln die sehr günstigen Resultate zuzuschreiben sind.

Im allgemeinen stimmen aber die Autoren (De Celebrini, Billet, Kermorgant) mit mir überein, dafs es unmöglich ist, die Stechmücken auszurotten, wenn die Sümpfe sehr ausgebreitet sind. Bei der Ausrottung in beschränkten Grenzen leistet das Petroleum bessere Dienste als das Larvicid.

Bei uns ist das Petroleum sehr teuer, aufserdem gehört ein besonderes Personal dazu, um in den heifsen Monaten die Arbeit zur Anophelesausrottuug immer wieder und wieder vorzunehmen. Glücklicherweise ist es leichter, die Culex auszurotten; auf diese Art wäre der Kampf gegen das gelbe Fieber leichter als gegen Malaria.

F. Hydraulische Assanierung.

Herr Perrone hat neues Material zur Vervollkommnung der hydrographischen und anophelischen Karte der Küstensümpfe gesammelt. Seine Arbeit ist schon für die ganze Küste des Kontinents vollendet, wir wissen also bereits, welche Sümpfe zu assanieren sind, da sie Nester von Anopheleslarven sind, welche nicht, da sie salzhaltig sind, und die Anopheles deshalb nicht darin leben können.

Ein ähnliches Studium, das für die bereits begonnenen und für die noch zu beginnenden Assanierungen von grofser Wichtigkeit ist, mufs noch in Sizilien und Sardinien vervollkommnet werden. Auf letztgenannter Insel fanden Prof. Fermi und Dr. Cano salzhaltige Sümpfe, die trotzdem assaniert werden, während sehr viele kleine Sümpfe und Moräste von Süfswasser vernachlässigt werden, die Stechmücken ungestraft züchten und so die Malaria verbreiten.

Prof. Manfredi und seine Schüler des hygienischen Instituts in Palermo bestehen mit Anführung vieler und genauer

Beobachtungen auf der Notwendigkeit, einer sofortigen Ausführung aller der kleinen und vielen Assanierungsarbeiten.

Es ist über jeden Zweifel erhaben, dafs in Sizilien und Sardinien und im allgemeinen überall da, wo wenig Sümpfen schwere Malaria entspricht, die Bodenassanierung von den kleinen Assanierungsarbeiten abhängt, die übrigens immer die notwendige Vollendung der grofsen, hydraulischen Assanierungen sein müfsten, und die doch so leichtsinnig vernachlässigt werden.[1])

Im Ferraresischen werden bereits, vom neuen epidemiologischen Standpunkt aus, die seit vielen Jahren mittels Auspumpung gemachten Assanierungen vervollkommnet.[2])

G. Agrarische Assanierung.

Prof. Rossi hat eine interessante Küstenzone beobachtet: Fundi und Monte S. Biagio, die beinahe direkte Fortsetzung der Pontinischen Sümpfe. Hier wie dort haben Ingenieure seit Jahrhunderten mit unübersteigbaren Schwierigkeiten gekämpft, und deshalb bilden sich noch heutzutage während der Regenzeit Moräste, und in den best assanierten Orten sind noch so und so viel parallellaufende Sümpfe übriggeblieben.

Trotz überbleibendem Anophelismus hat in Fondi und Monte S. Biagio die Malaria sehr abgenommen, weil auf die hydraulische Assanierung gewöhnlich die agrarische folgte, mit Bodenparzellierung unter die Bauern.

Diese verbessern somit ihre ökonomische Lage, gebrauchen reichlich Chinin und in den gefährlichsten Stunden bleiben sie im Hause.

In den nahegelegenen Pontinischen Sümpfen, wo die Latifundien mit ihren Extensivkulturen erhalten geblieben sind mit den Arbeitertrupps, ohne Häuser, schlecht genährt und schlecht behandelt, ist die Malaria hingegen noch immer sehr schwer. Latifundien und Malaria sind also eng miteinander verbunden und untereinander wie Ursache und Wirkung.

1) Siehe meine Vorlesungen: Malaria e Bonifiche. Boll. della Soc. Ingegneri ed Architetti Italiani. Roma, 1904, Nr. 8, 9 u. 10.

2) Bulletino ufficiale del Ministero dei Lavori pubblico. Anno III, Nr. 32, 1902.

Das Beispiel Atellas, wo in allen Städten mitten zwischen den Wohnungen Haustiere gehalten werden, uud wo die Malaria andauernd sehr schwer ist, genügt, um zu beweisen, dafs die Ansicht, Haustiere zögen Anopheles an, und ihre Anwesenheit mildere daher die Malaria, unrichtig ist.

H. Sanitätsgesetzgebung gegen Malaria.

Unsere Gesetze vom 23. Dezember 1900, Staatschinin, vom 2. November 1901, unentgeltliches Chinin für die Arbeiter in Malariagegenden, vom 22. Juni 1902, Chininverkauf zu Vorzugspreisen au Gemeinden uud Wohlfahrtseinrichtungen, wurden durch das letzte Gesetz vom 19. Mai 1904 noch vervollkommnet und werden bald in einem einzigen Text zusammengefafst werden. In der ganzen Sanitätsgesetzgebung ist dies das erste Beispiel eines ähnlichen Staatsdienstes.

Das Finanzministerium läfst Chinin bisulf. uud hydrochlorat in einfachen oder äufserlich verzuckerten Tabletten, Chinin hydrochlorat. und bimuriat in sterilisierten Phialen zu Einspritzungen zubereiten und verkaufen. In nicht allzu langer Zeit wird noch ein anderes Chininsalz in Gestalt von Schokoladenplätzchen für Kinder uuter 3 Jahren, die die Tabletten schlecht herunterschlucken können, zubereitet und verkauft werden Der Verkaufsgewinn, der trotz der niedrigen Preise und der Anschaffung der nötigen Maschinen am 30. Juni 1903 34270 Frs. betrug und sich in dem Jahre 1903—1904 ungefähr auf 80000 Frs. belaufen wird, geht ganz zu gunsten von Unterstützungen, um die Malariaursachen zu vermindern.

Nach dem letzten Gesetz kann der Staat jedes Chininsalz verkaufen. Es soll nicht nur unentgeltlich zur Behandlung der Arbeiter ausgeteilt werden, sondern auch zu Präventivzwecken; am Ende des Jahres wird dasjenige für die Bauern von den Eigentümern im Verhältnis der Ausdehnung ihrer resp. Besitzungen bezahlt, dasjenige der anderen Arbeiter von den Industriellen und Unternehmern im Verhältnis des resp. Verbrauches.

Wo es keine Ärzte gibt, können die Eigentümer selbst, die Fabrikbesitzer und Unternehmer das Chinin gratis direkt an die eigenen Arbeiter austeilen, und zu diesem Zwecke können sie es vom Staate zu Vorzugspreisen, wie die Gemeinden und Wohlfahrtseinrichtungen beziehen.

Jetzt ist die offizielle Begrenzung der Malariazonen in den einzelnen Gemeinden fast beendet. 1 Million ca. ist in den Gemeindebudgets dieses Jahres zum Ankauf von Staatschinin ausgeworfen worden.

Die Armenverwaltung hat den Armen unentgeltlich Chinin zu liefern oder (falls diese nicht die Mittel dazu haben) die Gemeinden selbst durch das Sanitätsgesetz vom 23. Februar 1904.

Zur nächsten Epidemiezeit haben wir vieles bereit, um beginnen zu können, die Malaria mit Erfolg zu bekämpfen.

Die Gemeinden Rom, Argenta, Vigasio, Atella verdienen um so gröfseres Lob, da sie das Gesetz zuerst befolgten und so die unzählbaren Wohltaten der neuen Malariagesetze bewiesen.

I. Volkspropaganda.

Diese genügt eigentlich nie, um Gesetze in die Gebräuche des Volkes übergehen zu lassen und besonders die neuesten gegen die Malaria.

Der Staat ging deshalb mit gutem Beispiel voran und liefs bei allen Arbeitern, die direkt oder indirekt von ihm abhängen, die neuen Methoden der Malariaprophylaxis anwenden, die eine zu diesem Zweck besonders ernannte Kommission vorgeschlagen hatte. Die Provinz- und Gemeindeverwaltungen sollten dasselbe für die von ihnen abhängenden Arbeiter tun, die wie diejenigen des Staates so oft unter der Malaria zu leiden haben.

Unsere Gesellschaft verteilte 200 000 Propagandaschriften[2]) unter die Ärzte, Volksschullehrer, landwirtschaftliche Gesellschaften, Bauern- und Taglöhnervereinigungen, Landwirte, Eisenbahnbeamte und andere Arbeiter in Malariagegenden, um die wahre Natur der Malaria bekannt zu machen,

---

1) Siehe Verbal der Ministerialkommission, die durch Dekret vom 11. Dezember 1903 zusammenberufen worden ist, um Verbesserungen in der antimalarischen Prophylaxis einzuführen. (Ministerium der öffentlichen Arbeiten, Rom.)

2) Heft Nr. 9. Ai medici condotti delle localita di malaria. 100000 Abzüge wurden verteilt. — Heft Nr. 10. Istruzioni popolari per difendersi dalla malaria. 100000 Abzüge wurden verteilt.

wie man sich die Fieber holt, wie man sich vor ihnen bewahrt und wie man sie behandeln soll. Der Unterrichtsminister hat in einem Rundschreiben an die Lehrer mit Vorschriften gegen Infektionskrankheiten auch solche gegen Malaria erteilt. Das Finanzministerium hat Tausende von Abzügen eines Manifests über Staatschinin und dessen Gebrauch ausgeteilt. Das Ackerbauministerium läfst durch die Professoren der landwirtschaftlichen Wanderlehrer antimalarische Propaganda machen und das Postministerium selbst durch die Landbriefträger. Hoffen wir also, dafs das Volk auf diese Weise die neuen Malariagesetze kennen lernt und vor allen Dingen sich nicht durch neue Vorurteile gegen Chinin beeinflussen läfst, jetzt wo es den gröfsten Nutzen daraus ziehen kann, da es ihm unentgeltlich von den Armenärzten auf Rechnung ihrer resp. Arbeitgeber geliefert wird.

Aber trotz alledem, trotz all der oben angeführten prophylaktischen Mafsregeln sind bei uns noch im Kampfe gegen die Malaria viele Hindernisse zu überwinden, und es wird noch lange dauern, ehe Italien sich von seinem jahrhundertelangen Feinde wird befreien können.

Über die Bedeutung des Bacterium coli im Brunnenwasser.

Von

Dr. **M. Kaiser**, Assistent.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz.)

Die meisten Hygieniker schliefsen sich in der Frage über die bakteriologische Beurteilung des Wassers jenen Autoren an welche dem Bacterium coli als Indikator für Fäkalverunreinigung jede Bedeutung absprechen; das Vorkommen dieses Mikroben sei belanglos, handle es sich doch um einen »überall« zu findenden Bazillus.

Bereits frühzeitig wurde dieser Ubiquitätsstandpunkt eingenommen und betont, dafs das Bacterium coli als Kriterium für die Verunreinigung eines Trinkwassers versage. Gärtner[1])*), der als Vertreter der Ubiquitätslehre angesehen werden darf, sagt: »Wir sehen also, mit den Fäulnis- und Kotbazillen und ihrer Bestimmung im Wasser ist fast nichts für die Beurteilung eines Wassers zu machen; wir wissen zunächst nicht, welche Bakterien zu den Fäulnisbakterien zu rechnen sind, von den Kotbakterien treten alle zurück bis auf das Bacterium coli commune, dieses aber ist ebenso wie die meisten sog. Fäulniserreger ubiquitär; beide Arten brauchen nicht an den Menschen und seinen Verkehr gebunden zu sein, und in nicht keimfreiem Wasser finden sich die erwähnten Bakterien in einzelnen Exemplaren leicht ein.«

*) Literaturverzeichnis siehe am Schlufs der Abhandlung.

Lehmann[2]) schränkt die Bedeutung des Kolibazillus als Indikator für Fäkalverunreiuigungen dadurch ein, dafs er auf die grofse Varietätenzahl hinweist, welche zur Vorsicht mahne, »nicht aus jedem im Wasser gefundenen koliartigen Organismus eine Verunreinigung des betreffenden Wassers abzuleiten«.

Nach Kruse[3]) würde das Bacterium coli wohl seltener gefunden werden, wenn man sich die Mühe geben würde, »ein im Wasser gefundenes Bakterium mit allen Mitteln der jetzt recht komplizierten Diagnostik mit jenem Typus zu identifizieren.« Leider ist seiner Arbeit nicht zu entnehmen, welche Ansprüche er an ein typisches Bacterium coli stellt; darf man die diagnostischen Kriterien, welche sein Schüler Weifsenfeld angibt, als solche ansehen, so will mir der Begriff seines Bacterium coli mehr als ziemlich weit gefafster Gattungsbegriff erscheinen. Auch Weifsenfeld[4]) kommt zu dem Schlufs, dafs der Befund des Kolibazillus eine Beurteilung des Wassers nicht zulasse, da es »aus Wässern jeder Herkunft, guten und schlechten, zu züchten« sei, wenn man nur genügende Quantitäten Wasser zur Untersuchung nähme.

Im Jahre 1894 beschrieb Henke[5]) einen Fall von Empyema necessitatis, von dem einige eitergetränkte Verbandstückchen zur bakteriologischen Untersuchung gelangten. Es fand sich Bacterium coli. Verfasser knüpft daran eine Betrachtung über die Ubiquität des Kolibazillus, welche ganz hinfällig wird, wenn man bedenkt, dafs der Befund dieses Mikroben in der Nähe und am Menschen selbst doch nichts Auffälliges an sich hat.

In vielen Fällen von Untersuchungen auf Koli mag es sich ja um ein typisches Bacterium coli commune Esch. gehandelt haben, in vielen andern aber dürften die Autoren, wohl infolge mangelhafter Identifizierung oder zu weiter Begriffsfassung, anderweitige Bakterien aus der Koligruppe vor sich gehabt haben. Wie dem auch sei, der Glaube an das Koli als Indikator für Fäkalverunreinigung war erschüttert, und am XIII. Internationalen Kongrefs für Hygiene und Demographie zu Brüssel betonte Löffler[6]): »Besondere Methoden zum Nachweise von Kolibakterien oder bestimmten Fäulnisorganismen sind

nicht erforderlich, da der Nachweis dieser Bazillenarten für sich allein kein abschliefsendes Urteil über die Brauchbarkeit eines Wassers gestattet.« Allerdings drückt sich Löffler hier weniger scharf aus, als er dem Befund des Kolibazillus in Verbindung mit anderen gravierenden Befunden doch eine Bedeutuug beizumessen scheint. Im allgemeinen wird man aber nicht irre gehen, wenn mau annimmt, dafs der oben zitierte Ausspruch Löfflers einer heute vielfach verbreiteten Anschauung entspricht.

Im schroffen Gegensatz zu den erwähnten Autoren, denen sich noch eine Reihe französischer zugesellen, stehen jene, welche die Überzeugung haben, dafs der Kolibazillus an die Nähe des Menschen, an seine Verkehrsstätten, gebunden sei, und dafs der Befund desselben im Wasser zu einem Schlusse auf direkte oder indirekte Verunreinigung durch menschliche oder tierische Dejekte berechtige.

Im Jahre 1894 schreibt Schardinger[7]): »Das Bacterium coli commune Esch. kommt meiner Erfahrung nach nicht so häufig vor, als vielfach angenommen wird, dafür spricht der relativ seltene Nachweis im Trinkwasser und das Fehlen desselben als zufällige Luftverunreiniguug auf Platten«. »In vielen hundert Wasseruntersuchungen habe ich fünfmal das Bacterium coli commune nachgewiesen.« Schardinger nahm 100 ccm Wasser zur Untersuchung; die Art derselben wird später noch zur Sprache kommen.

Nach Dunbar[8]) findet sich der Kolibazillus nur in verunreinigtem Wasser. »Bei der mangelhaften Anlage eines grofsen Teiles derjenigen Reservoire, aus welchen Brauchwasser entnommen wird, mufs man vou vornherein erwarten, dafs sich in recht vielen Wässern der Bacillus coli commune wird nachweisen lassen. In der Tat trifft man ihu in offenen Flufsläufen, welche jeder Verunreinigung ausgesetzt sind, häufig in grofser Zahl.«

»Auch in dem Wasser von Kesselbrunnen, welche nahe bei Dunggruben gelegen und der Verunreinigung von der Oberfläche her sehr zugängig wareu, haben wir ihn gefunden, während er in reinen Wässern vermifst wurde.«

Auch Kübler und Neufeld[9]) vermifsten gelegentlich einer Brunnenuntersuchung auf Bacillus typhi das Bacterium coli.

In seiner umfassenden Monographie über mikroskopische Wasseranalyse schreibt Mez[10]): »Man hat dem Bacterium coli zwar seine Bedeutung als typischer Darmorganismus auch schon abgesprochen und darauf hingewiesen, dafs dasselbe schon wenige Stunden nach der Geburt in den Darm des Menschen und der höheren Tiere hineingelangt, dafs es an den verschiedensten Orten und bei den verschiedensten Gelegenheiten sich findet und deswegen noch keinen Beweis für die Fäkalverunreinigung des Wassers darstelle.

Diesem gegenüber ist zu betonen, dafs wir Menschen, wenigstens wir Städter, leider überhaupt in einer Atmosphäre leben, welche überall und allerorten einen Staub enthält, der Fäkalreste in reichlichstem Mafse mit sich führt. Dementsprechend ist es nur selbstverständlich, dafs wir das Bacterium coli in unserer Umgebung sehr häufig finden. Gerade die Regelmäfsigkeit und Geschwindigkeit, mit welcher Bacterium coli, oft schon vor der ersten Nahrungsaufnahme des Kindes, vom After her in den Darm eindringt, ist der beste Beweis dafür, dafs es ein typischer Darmorganismus ist.

Wenn es nun möglich ist, diesen Spaltpilz in dem Wasser eines Brunnens nachzuweisen, so ist damit die Kommunikation zwischen der Flora irgend eines Darmes und dem Brunnenwasser bewiesen. Diese Kommunikation ist nur dadurch möglich, dafs Fäkalien oder Fäkalauslaugungen oder Fäkalstaub in den Brunnen gelangt sind: unter allen Umständen ist die Entdeckung einer solchen Kommunikation von gröfster Wichtigkeit.«

Meusburger und Rambousek[11]) halten bei Befund von Bacterium coli eine Kommunikation des betreffenden Wassers mit irgend einer Infektionsquelle (Kanal, Senkgrube, Düngerhaufen etc.) für erwiesen.

Über eine sehr beachtenswerte Arbeit von Chick[12]), welche geeignet ist, die »Ubiquität des Kolibazillus« in das gehörige Licht zu stellen, referiert C. Fränkel. »Verfasser hat sich in Fortsetzung früherer Arbeiten mit der Frage beschäftigt, ob der

Kolibazillus eine ubiquitäre Verbreitung besitze oder sein Vorkommen als Folge einer Verunreinigung des betreffenden Materials mit Darmentleerungen anzusehen sei, und deshalb Proben von Luft, von gedüngter Ackererde, von Strafsenstaub und -Kehricht, sowie von Schmutzlachen einer entsprechenden Prüfung unterworfen.«

»In der Luft wurde der Bazillus nur ein einziges Mal nachgewiesen, als diese aus einem schlecht ventilierten Stalle herrührte, und obwohl Mengen bis zu 250 l und mehr verarbeitet wurden. Aber auch in den sonstigen Proben war der Bazillus seltener, als man zunächst hätte glauben sollen, und selbst im Strafsenstaub oder in der Ackererde fehlte er häufig, wenn es sich nicht um feuchtes oder nasses Material handelte.«

»Nach alledem gelangt Verfasser zu dem Schlufs, dafs die Anwesenheit des Kolibazillus in derartigen Substanzen als ein Beweis für eine frische Beschmutzung derselben anzusehen sei.«

Pfaundler[13]) äufsert sich über die Verbreitung des Kolibazillus wie folgt: »Bacterium coli ist ein auch in der Aufsenwelt sehr weit verbreiteter Keim. Man hat sogar von seiner »Ubiquität« (Henke, Flügge) gesprochen, doch ist dies nur in beschränktem Sinne gerechtfertigt, denn man wird — sofern man an der von Escherich für das »Bacterium coli« vorgeschlagenen Begriffsumgrenzung festhält — finden, dafs sich sein Vorkommen in der Natur an die Bedingung einer direkten oder indirekten Verunreinigung des Fundortes mit menschlichen oder tierischen Darmsekreten knüpft.«

In der jüngsten Zeit sprachen etliche Arbeiten dafür, als ob man sich Mühe gäbe, das Koli als Indikator für Fäkalverunreinigung wieder zu verwerten.

Petruschky und Pusch[14]), die sich mehrere Jahre mit der Frage des Trinkwasserkoli beschäftigten, kommen zu folgendem Gesamtergebnis: »Die »Ubiquität« des Bacterium coli konnte keineswegs bestätigt werden. Wiederholt haben wir Wasserproben untersucht, die in der ganzen für uns verfügbaren Menge kein Bacterium coli enthielten.

In einigen reinen Brunnenwässern war Bacterium coli selbst in Mengen von $^3/_4$ l nicht nachweisbar, in wenig verunreinigten in 100, 10 bzw. 1 ccm.«

Aus der letzten Zeit sind auch noch Hirschbruch und Schwer[15]) zu erwähnen. Ihrer Arbeit entnehme ich folgenden Passus: »Bei unseren Untersuchungen von Wasser haben wir häufig — unabhängig davon, ob Typhusbazillen sich im Wasser fanden oder nicht — die Anwesenheit des Bacterium coli commune als wichtiges Stigma der Wasserverunreinigung erachtet, und wir halten die Kolidiagnose im öffentlichen hygienischen Dienst bei der Beurteilung von Trinkwässern für fast ebenso wichtig wie die Eruierung des Typhusbazillus selbst. Zeigt uns doch der Kolibazillus eine bestehende Kommunikation zwischen dem Brunnen, Bach, See usw. und den irgendwo abgelagerten Fäkalien an. Wo eine solche Verbindung aber besteht, ist eine Verseuchung des Wassers mit Typhus jederzeit möglich.

Soweit die Gegner der Ubiquitätslehre.

Einen vermittelnden Standpunkt nehmen jene Autoren ein, welche dem Koli als brauchbaren Indikator für Fäkalverunreinigung doch nicht ihre Anerkennung versagen können, aber, beeinflufst durch die Kenntnis von der gewifs sehr weiten Verbreitung dieses Bazillus, den Mittelweg darin suchen, dafs sie die von Migula aufgestellte Bestimmung der Keimzahl für die Wasserbeurteilung auf einen speziellen Fall anwenden und nur einen Befund von zahlreichen Kolibazillen als beachtenswert halten.

Diese Ansicht verficht Papasotiriu[16]): »Im Wasser ist die Anwesenheit von spärlichen Keimen von Bacterium coli ohne jede diagnostische Bedeutung.« »Die Anwesenheit zahlreicher Individuen von Bacterium coli in einem frisch geschöpften Wasser kann, wie man längst gewufst hat, und wie durch die Beobachtung von H. Chick weiter festgestellt ist, den Verdacht auf fäkale Verunreinigung eines Wassers erwecken.«

Zu einem ähnlichen Schlusse kommt v. Freudenreich[17]). Einerseits überzeugt davon, dafs das blofse Vorkommen von

Bacterium coli nicht genüge, um ein Trinkwasser zu diskreditieren, gibt er anderseits wieder zu, dafs der Befund von Koli doch nicht ganz belanglos sei und stützt sich hierbei auf folgende Tatsachen:

1. »In jedem schlechten Wasser, d. h. chemisch beanstandbarem (z. B. Vorhandensein zu vieler organischer Substanz) und sonst sehr bakterienreichem Wasser, ist Bacillus coli reichlich vorhanden.«
2. »Kommt er in bakterienarmen und chemisch gutem Wasser vor, so ist er doch darin nur sehr spärlich vorhanden.«
3. »Sehr oft, aber auch nur wenn es sich um ein sonst als sehr gut anerkanntes Wasser handelt, fehlt er auch ganz.«

»Daraus ergibt sich, dafs sein Fehlen jedenfalls zu den Eigenschaften eines sehr guten Trinkwassers gehört, und dafs sein massenhaftes Vorkommen stets nur bei schlechtem Wasser auftritt, während ein spärliches Vorhandensein desselben nicht absolut gegen die Brauchbarkeit des betreffenden Wassers spricht, wenn dabei das Wasser den sonstigen chemischen und bakteriologischen Anforderungen entspricht.«

Im vorhergehenden habe ich mich bemüht, eine Auslese aus den verschiedenen Arbeiten, die teils für teils gegen das Koli als Index für Trinkwasserverseuchung geschrieben wurden, zu geben. Die Zahl der Abhandlungen gerade über diesen Punkt ist eine sehr beträchtliche, und man könnte sich nur wenig ermuntert fühlen hier etwas hinzufügen zu wollen, wären es nicht die in jüngster Zeit erschienenen Arbeiten, welche dieses bereits als abgetan betrachtete Thema wieder neu aufnahmen und so zu neuen Untersuchungen aufforderten.

So unternahm ich es denn auch, die Frage des Trinkwasserkoli einer neuerlichen Prüfung zu unterziehen.

I. Ist das Koli ubiquitär?

Für meine Zwecke besser gesagt: Ist das Koli in jedem unserer Brunnenwässer zu finden? und

II. Ist ihm eine Bedeutung als Indikator für Fäkalverunreinigung beizumessen?

Da es von vorneherein nicht anzunehmen war, daſs man Koli bei der Aussaat geringer Wassermengen oder gar nur eines Kubikzentimeters antreffen werde, so war die Indikation für eines der zahlreichen Anreicherungsverfahren gegeben.

Die Geschichte dieses, welche bis auf die Anfänge bakteriologischer Untersuchungsmethoden zurückreicht, kann hier nur insofern interessieren, als sie das Bacterium coli allein betrifft; deshalb sollen nur jene Verfahren eingehender gewürdigt werden, welche als für das Bacterium coli spezifische Methoden gelten.

Die ersten Vorkulturen, welche Koli in überwiegender Mehrzahl aufgehen lieſsen, wurden eigentlich nicht zu diesem Zwecke augelegt, sondern galten der Anreicherung des Bacterium typhi. Somit lassen sich die Verfahren zur Isolierung dieser beiden Bakterien auf einen gemeinsamen Anfang zurückführen.

Als erster darf Thoinot[18]) genannt werden, welcher, gestützt auf die Erfahrungen von Chantemesse und Widal[19]), daſs Bacterium typhi im Gegensatz zu anderen Bakterien auf 0,2 proz. Karbolgelatine gut wachse, diese Eigenschaft zu einem Isolierverfahren ausbeutete.

In ähnlicher Weise arbeiteten Péré[20]), Vincent[21]) und später Kleiber[22]), indem sie als Vorkultur peptonhaltige Bouillon mit 1- bzw. 2 promill. Karbolzusatz benützten. Péré ist überdies als der erste hervorzuheben, der gröſsere Wassermengen zur bakteriologischen Untersuchung empfahl.

Unwesentlich modifiziert wurde die oben genannte Methode durch Parietti[23]), welcher die Wasserprobe mit einer Mischung von 5 proz. Karbol- und 4 proz. Salzsäure versetzt. Sein Verfahren, welches sich viele Freunde erworben, wurde durch Meusburger und Rambousek (a. a. O.) für den Landarzt handlicher gemacht.

Soweit die Methoden, welche auf Säurezusatz beruhen. Sie alle hatten als Ziel elektives Wachstum des Typhusbazillus, doch rechtfertigte nicht eine einzige die Hoffnungen, die man auf sie gesetzt. Man sah gar bald, daſs es nicht gelinge, Begleitbakterien auszuschalten, ja daſs diese, und zwar namentlich das Bacterium

coli, in überwiegender Mehrzahl gedieh. Heute dienen diese Vorkulturen gewöhnlich zum Kolinachweis.

Im Gegensatz zu den obenerwähnten Autoren macht Burri[23]) seinen Nährboden nicht nur nicht sauer, sondern fügt ihm sogar 0,75 proz. wasserfreie Soda zu und will damit gute Resultate erzielt haben.

Von diesen Methoden wesentlich verschieden sind jene, welche gewisse biologische Eigenschaften des Kolibazillus als Grundlage für spezifische Vorkulturen benützen, ich meine seine Fähigkeit, Poly- und Monosaccharide zu vergären.

Graziani[24]) und Abba[25]) verwendeten Laktose mit einem Zusatz von Phenolphthalein. Abba bereitete eine Nährlösung, die auf 1000 Teile Wasser enthielt:

Milchzucker . . .	200 g
Trockenes Pepton .	100 »
Chlornatrium . .	50 »

Für 1 l des zu untersuchenden Wassers genügt ein Zusatz von 100 ccm der beschriebenen Lösung plus 0,5 ccm einer 1 proz. alkoholischen Phenolphthaleinlösung; das ganze Gemenge wird durch den weiteren Zusatz von kohlensaurem Natron in kalt gesättigter Lösung bis auf Rosafarbe getont. Vorhandensein von Koli verrät sich durch Vergärung, Entfärbung und üblen Geruch.

Freudenreich (a. a. O.) gelang es, Koli zu isolieren, indem er das Ausgangsmaterial mit 5 proz. Laktosebouillon anreichert ohne jeden weiteren Zusatz. Auch hier soll Gasbildung auf Koli hindeuten.

Th. Smith[26]) zieht 1 proz. Dextrose vor, weil in den Milchzuckerlösungen das gleichfalls vergärende Bacterium cloacae leicht zu Täuschungen führen kann. Gasbildung und saure Reaktion sollen für das Koliwachstum charakteristisch sein.

Auch Schardinger (a. a. O.) benützte teilweise den Zuckerzusatz, arbeitete aber auch mit 1 proz. Pepton-Kochsalzlösung, bebrütet wie alle übrigen bei 37° C, und untersucht beim Peptonverfahren auf das Vorhandensein eines »ausgesprochen fäkulenten Geruches« auf H_2S- und Indolbildung. H_2S wird chemisch

nachgewiesen durch Einhängen eines mit Bleikarbonat überzogeuen Papierstreifens.

Schardingers Methode wurde auch von Weifsenfeld (a. a. O.) verwertet und in der letzten Zeit von Petruschky und Pusch (a. a. O.). Letztere reichern das Wasser āā mit 1 proz. Pepton-NaCl-Lösuug an uud bebrüten 24 Stunden. Bei Bruunenwässern stiegen sie gradatim von 0,1 bis 100 cm, und nennen diejenige Quantität des Wassers, bei der eben Trübung auftritt, »Thermophilentiter« desselben, während der »Kolititer« dieses Wassers durch jene geringste Quantität desselben gegeben ist, in der man Koli eben noch nachweisen konnte. Im Brunnenwasser liegt der »Kolititer« erheblich höher, im verseuchten Flufswasser fällt er mit dem »Thermophilentiter« zusammen.

Bei der Durchsicht der Literatur dieser Anreicherungsverfahren entschlofs ich mich zunächst für die Parietti-Methode. Einige Versuche mit derselben belehrten mich jedoch, dafs sie sich für unsere Wässer wenigstens insoferu minder eigne, als die Platten stets übersät waren von verflüssigenden Kolonien, sowie solchen zahlreicher Begleitbakterien. Eine Koli-Reiukultur erzielte ich trotz öfterer Verwendung dieser Methode niemals.

Dieser Mifserfolg veranlafste mich, es mit dem Pepton-Kochsalzverfahren zu versuchen; auch hier zeigte sich derselbe Übelstand: zahllose verflüssigeude Bakterienkolonien.

Zusätze, die geeignet gewesen wären, diese in ihrem Wachstum zu beeinträchtigen, wie Kristallviolett etc. oder die Anwenduug von Sauerstoffentziehung mufsten die Methode schon komplizierter machen.

Ich versuchte es daher mit dem Verfahren von Lignières[27]). Seine Methode, welche sehr wenig beuützt zu sein scheint — Pfaundler gibt sie (a. a. O.) an —, ist von aufserordentlicher Einfachheit:

»Le thé obtenu en faisant infuser du foin pendant un quart d'heure environ dans l'eau bouillante, remplace purement et simplement le bouillon shéniqué; on peut employer ce thé à 1, 2, 3, . . 5 p. 100 et plus; le thé à 3 p. 100 m'a toujours fort bien réussi.

Lorsqu'on veut extraire le coli-bacille des matières fécales, par exemple, il n'est besoin que de dépose dans un tube ou dans un ballon contenant du thé de foin stérilisé, gros comme une petite noisette de ces matières et de placer la culture dans l'étuve à une température favorable, 36 à 42 degrés. Dès la dix-huitième ou la vingt-quatrième heure, le thé de foin s'est troublé; on peut en prélever une goutte, l'étendre dans un bouillon stérilisé, puis faire une plaque de gélatine, laquelle, en deux ou trois jours, donne des colonies de coli-bacille, ordinairement plus nombreuses que toutes les autres reunies.

C'est cette méthode qui me sert depuis bientôt trois ans à isoler les coli-bacilles des matières fécales des animaux, de leurs aliments, de leurs boissons, du sol etc.«

Aus zahlreichen Versuchen, die ich mit Lignières Heuinfus anstellte, gewann ich für seine Bereitungsweise folgende Erfahrungen:

Es ist von Vorteil, gleich gröfsere Quantitäten herzustellen, da man so mit stets gleichem Material arbeitet.

Es werden z. B. 5 l Wasserleitungswasser bis zum Sieden erhitzt und damit 600 g Heu (»süfses Heu«) übergossen. Nun läfst man das Wasser 15 Minuten lang ziehen, wobei zu beachten ist, dafs das Heu stets ganz unter Wasser sein mufs, giefst dann ab, prefst mit einer gewöhnlichen Presse das Heu aus, und ergänzt das Infus auf 5 l mit gewöhnlichem Wasser. Darauf Filtration durch Watte oder Koliertuch.

Das Filtrat wird nun der zahlreichen Sporen halber nicht im Dampftopf, sondern im Autoklaven durch eine Stunde sterilisiert, wobei ein voluminöser Niederschlag ausfällt, teils Flocken, teils zarte Membranen. Nun hat man den Heutee noch 1—2 Tage in der Kälte stehen zu lassen, bis nichts mehr ausfällt. Eine abermalige Filtration durch gewöhnliches weifses Filtrierpapier, der Sterilisierung im Dampftopf folgt, ergibt nunmehr eine gelb- bis dunkelbraune bzw. braungrüne, vollkommen klare, sauer reagierende Flüssigkeit. Ein alkalisch reagierendes oder auch nur neutrales Heuinfus, von dem Lignières spricht, ist mir nie untergekommen. Diese Verschiedenheit in der Reaktion mag

wohl auf die grofsen Unterschiede der diversen Heuarten zurückzuführen sein.

3% Heuinfus, titriert bis zum Phenolphthaleinrotpunkt, entsprach 0,0306%, 12% Heuinfus 0,046% HCl.

Eingesätes Koli verstärkte in einem Falle die saure Reaktion bei 3% HS auf 0,054%, bei 12% auf 0,072% HCl.

Vielfach zeigen sich jedoch in der Menge der gebildeten Säure sehr bedeutende Unterschiede.

Lignières ist geneigt, die Säurebildung auf Zersetzung des im Heuinfus enthaltenen Fruchtzuckers zurückzuführen. Dagegen läfst sich nichts einwenden, denn Fruchtzucker läfst sich reichlich nachweisen. Stark kolihaltiges Wasser erzeugt, mit Heuinfus angereichert, zuweilen deutlich sichtbare Gasblasen.

Auch mit Hefe versetzt, erzielt man im Gärungskölbchen Gasbildung.

Für meine Versuche benutzte ich gewöhnlich 12% Heuinfus, nach obiger Angabe bereitet, und setzte dem zu untersuchenden Wasser, meist einem Liter, soviel davon zu, dafs das ganze Gemenge 3% wurde.

Die Kolben wurden dann bei 37—40° C durch 48 Stunden bebrütet, der Inhalt einer Öse in Gelatineröhrchen gebracht und zu Platten verarbeitet.

Das Resultat war meist ein sehr zufriedenstellendes.

Allerdings darf ich es nicht verschweigen, dafs mich auch diese Methode manchmal im Stiche liefs und die Platten der vielen Begleitkolonien halber gar nicht verwendbar waren. In solchen Fällen änderte sich das Verhältnis der nicht peptonisierenden zu den Gelatine verflüssigenden Kolonien zugunsten der ersteren, wenn man die Bebrütung durch mehrere Tage fortsetzte.

In der weitaus gröfseren Mehrzahl der Fälle bedurfte es zwar eines solchen Verfahrens gar nicht, und Versuche mit Einsaat von aus Wasser stammenden und anderen Gelatine verflüssigenden Keimen ergaben entweder eine Nichtvermehrung oder sogar bedeutende Verminderung derselben pro Kubikzentimeter.

Zur Übersicht über die verschiedentlich zur Beobachtung gelangten Plattenbilder und zum Vergleich mit den aus 1proz.

Pepton-Na Cl-Lösung als Anreicherungsmedium gegossenen Platten füge ich eine Tabelle bei, die keiner weiteren Erklärung bedarf.

Tabelle I.

	Aussehen der Platte nach	1 proz. Pepton-Na Cl-Lösung	3 proz. Heuinfus[1]
Nach 24 stündiger Bebrütung.	24 Std.	I. Platte: Beginnende allseitige Verflüssignng.	I. Pl.: Keine Spur einer Verfl.
		II. Pl.: Zahlreiche verflüss. Kol.	II. Pl.: Keine Spur einer Verfl.
		III. Pl.: Einzelne verflüss. Kol.	III. Pl.: Keine Spur einer Verfl.
	48 Std.	I. Pl.: Total verflüssigt.	I. Pl.: Makroskop. keine verfl. Kolonien sichtbar.
		II. Pl.: Verflüss. Kolonien konfluisrend.	II. Pl.: Einzelne verflüss. Kol.
		III. Pl.: Etwa die Hälfte aller Kolonien verflüssigt.	III. Pl.: Einzelne verflüss. Kol.
		Kein Koli.	Typ. Koli in zahlreichen Kolonien.
Nach 48 stündiger Bebrütung.	24 Std.	I. Pl.: Sehr starke allseitige Verflüssigung.	I. Pl.: Sehr dicht, keine Spur einer Verflüssigung.
		II. Pl.: Mehrzahl verflüss. Kol.	II. Pl.: Keine Verflüssigung.
		III. Pl.: Ungefähr $^1/_3$ verfl. Kol.	III. Pl.: Keine Verflüssigung.
	48 Std.	I. Pl.: Total verflüssigt.	I. Pl.: Keine Verflüss. makroskopisch wahrnehmbar.
		II. Pl.: Etwa $^2/_3$ verflüssigt.	II. Pl.: Etliche verflüss. Kolon.
		III. Pl.: Konfluierende grofse, alle übrigen verdrängende Kolon.	III. Pl.: Etliche verflüss. Kolon.
		Kein Koli.	Typ. Koli nachweisbar.

Worauf die bereits mehrfach erwähnte Eigenschaft des Heuinfuses, Gelatine verflüssigende Keime in ihrem Wachstum zurückzuhalten oder ganz zu unterdrücken, zurückzuführen ist, ob auf die durch den Abbau des Zuckermoleküls gebildete Säure, oder auf die bereits präexistierende Gallusgerbsäure, welch letztere

1) Zur Untersuchung gelangten je 100 ccm Wasserleitungswasser, welches in dem einen Fall einen Zusatz von 1 % Pepton und Kochsalz in 10 proz. Lösung, in dem andern 3 % Heu in 12 proz. Infus enthielt.

durch ihre spezifische Reaktion leicht nachgewiesen werden kann, darüber vermag ich keine näheren Auskünfte zu geben.

Jedenfalls dürfte der Tanningehalt bei der Unterdrückung Gelatine verflüssigender Bakterien eine Rolle spielen.

Versuche, die mit gallusgerbsauren Nährböden angestellt wurden, ergaben eine Abnahme in der Zahl der erwähnten Keime pro Kubikzentimeter, in manchen Fällen bei kombinierter Einsaat mit Koli sogar totale Unterdrückung, während letzteres in seinem Wachstum gar nicht tangiert wurde.

Eingehendere Studien über den Einflufs des Tannins auf das Bakterienwachstum behalte ich mir für spätere Versuche vor.

Wie dem nun sei, ob dem Gerbsäuregehalt oder der durch kolibakterielle Tätigkeit erzeugten Säure die Brauchbarkeit des Heuinfuses zuzuschreiben ist, ich lernte in ihm einen Nährboden kennen, der, wie bereits Lignières betont, als Anreicherungsmittel für Koli nur wenig zu wünschen übrig läfst.

Dazu kommt aber noch ein Punkt, der namentlich bei zahlreichen Versuchen nicht zu unterschätzen ist, nämlich die aufserordentliche Billigkeit dieses Nährbodens. Er ist, von der geringen Mühe seiner Herstellung abgesehen, nahezu kostenlos.

Nach diesen günstigen Erfahrungen hatte ich also nicht die geringste Ursache, mich nach einer besseren und für meine Zwecke geeigneteren Vorkultur umzusehen; meine Untersuchungen der Grazer und etlicher auswärtiger Brunnenwässer auf Koli sind denn auch durchwegs mit Heuinfus angestellt.

Bei der Fragestellung nach dem Vorhandensein oder Fehlen des Koli in den erwähnten Wässern erwuchs nun insofern eine grofse Schwierigkeit, als man den »Begriff Koli« für diese Zwecke erst präzisieren mufste. Ausschlaggebend müfsten natürlich neben den morphologischen Kriterien die biologischen Eigenschaften sein.

Um dem Vorwurf zu begegnen, den »Begriff Koli« zu eng oder zu weit gefafst zu haben, untersuchte ich alle die Gelatine nicht verflüssigenden Stäbchen auf ihr morphologisches und biologisches Verhalten und kam so zur Aufstellung der weiter unten folgenden Tabellen.

Aber auch hier mufste eine Grenze festgesetzt werden, die nicht überschritten werden durfte, nämlich die Gramnegativität, ein Kriterium, das einstimmig als conditio sine qua non für den »Begriff Koli« angesehen wird. So wurde denn auch alles, was nicht gramnegativ war, von vornherein ausgeschlossen, das übrige Material auf Bouillon, Zuckeragar, Milch, Lackmusmolke, Neutralrot-Agar und 5 proz. Peptonlösung übertragen.

Zur Aufstellung nachstehender Tabellen, die mir in erster Linie zur Diagnosenstellung dienen sollten, veranlafste mich auch der Umstand, dafs sich durch Einsichtnahme in das Rohmaterial jedermann selbst die daraus resultierenden Schlüsse ziehen kann.

(Siehe Tabellen II, III u. IV auf S. 136—141.)

Bevor ich auf eine zusammenfassende Besprechung des biologischen Verhaltens der in den verschiedenen Wässern gefundenen Kolistämme eingehe, will ich, da in den Tabellen des mangelnden Raumes halber die Beschreibung der einzelnen Brunnen nur eine sehr dürftige ist, einen allgemeinen Überblick über die Verhältnisse der von mir untersuchten Brunnen geben.

Dieselben sind durchwegs in Alluvialboden gehaute Schachtbrunnen von durchschnittlich 8—12 und mehr Meter Tiefe, 1 m Durchmesser, in den meisten Fällen bis zu 30 cm herausgemauert und mit zwei halbkreisförmigen Steinplatten gedeckt. Hie und da sind diese ohne Falz aneinandergefügt, der Spalt nur locker oder gar nicht verkittet, so dafs Regenwasser oder irgendwelche Abwässer ungehindert in den Schacht eindringen können. Die Wandung des Schachtes sollte laut Brunnenordnung 4 m tief aus undurchlässigem Mauerwerk hergestellt sein und in den oberen Partien aus Ziegelsteinen, die mit Zement verputzt sind, in den unteren aus lose aneinandergefügten grofsen Kalksteinen bestehen, um dem Grundwasser überall ungehinderten Zuflufs zu gestatten.

Mittels einer einfachen, durch ein hölzernes Brunnenhäuschen gedeckten Saugpumpe wird das Wasser durch hölzerne, seltener eiserne Röhren zutage gefördert.

(Fortsetzung des Textes auf S. 142.)

Tabelle II. I. Brunnen mit dem Befunde von typischem Bacterium coli commune.

Nr.	Brunnen	Form d. Koli-Kolonien auf d. Gelatineplatte	Beweglichkeit und Gröfse des Bakteriums	Gram	Wachstum in Bouillon	Verhalten in Zuckeragar	Verhalten in Neutralrot-Agar	Wachstum in Milch	Wachstum in Lackmusmolke	Indolbildung	Keimzahl pro ccm Wasser
1 [1])	Wasserleitnngswasser, eine Stunde fliefs., einem selten benützten Hahn entnommen	Typisches Weinblatt	Kurzstähchen langsam sich schlängelnd	Negativ	Diffuse Trübung, flockiger Bodensatz [2])	Starke Gasbildung nach 24 Std.	Starke Fluoreszenz und Entfärbung nach 24 Stunden	Kompakte Koagulation nach 3 Tagen, Reaktion sauer	Starke Säurebildung; Flüssigkeit klar, geringer Bodensatz	Schwach positiv nach 3 Tagen	—
2 [2])	Brnnnen in sebr engem dnnklen Hof stagnierende Abwässer herum	Kolonie mit Blätter rippenartiger Zeichn.	Detto	»	Detto	Spärliche Gasbildung nach 48 Std.	Geringe Fluoreszenz nnd Entfärbung nach 48 Stunden	Feinflockige Koagulation und Reaktion sauer nach 3 Tagen	Spnr von Säurebildung; Flüssigkeit klar, wenig Bodensatz	Schwach positiv nach 5 Tagen	212
3 [3])	Brnnnen in einer Kellernische, sehr mangelhaft gedeckt	Typisches Koliweinblatt	Lebhaft sich schlängelndes Kurzstäbchen	»	Detto	Sehr intensive Gasbildg. nach 24 Std.	Starke Fluoreszenz und Entfärbung nach 24 Stunden	Kompakte Koagulation nach 48 Std., Reaktion sauer	Intensive Säurebildung; Flussigkeit klar, flockiger Bodensatz	Nach 10 Tagen positiv	1400
4	Hofbrunnen, tadellose Anlage	Opake Kolonie	Detto	»	Diffuse Trübung, fadenart. Bodensatz	Nach 24 St. intensive Vergärung	Schwach positiv nach 24 Stunden	Feinflockige Koagulation nach 60 Std., Reakt. sauer	Mäfsige Säurebildg. n. 24 St.; Flüssigk. klar, Bodensatz wolkenartig	Nach 5 Tagen schwache Indolbildnng	89
5 [3])	Hofbrunnen, schlecht gedeckt, stagnierend. Wasser im Einlaufstöckel	Typisches Koliweinblatt	Kurz stähchen mit sehr geringer Bewegung	»	Diffuse Trübung, wolkiger Bodensatz	Nach 6 Stunden intensive Vergärung	Entfärhnng und Fluoreszenz nach 36 Stunden	Kompakte Koagulation und sanre Reaktion nach 60 Std.	Stark saner, Bodensatz flockig, Flüssigkeit klar	Sehr intensive Indolbildung nach 5 Tagen	93

6	Hofbrunnen, tadellose Anlage, wenig gebraucht	Opake Kolonie	Langsam pendelndes Kurzstäbch. ohne Ortsveränderung	Negativ	Diffuse Trübung, fadenart. Bodensatz	Nach 6 St. Vergärung sehr intensiv	Totale Entfärbung und Fluoreszenz nach 24 Stunden	Kompakte Koagulation nach 60 Std., Reaktion sauer	Intensive Säurebildung; Flüssigk. klar, Bodens. flockig und fadenartig	Nach 5 Tagen positiv	3
7	Hofbrunnen, tadellose neue Anlage	Detto	Kurzstäbch. mit lebhaft schlängelnd. Bewegung	»	Detto	Starke Gasbildg. nach 24 Std.	Schwache Fluoreszenz und Entfärbung	Feinflockige Koagulation nach 60 Std., Reakt. sauer	Starke Säurebildung; Flüssigkeit trüb, wolkig. Bodens.	Schwache Indolbild. nach 5 Tagen	89
8	Hofbrunnen, gut gehalten, Umgebung unrein	Typisches Weinblatt	Mittelgrofs., rasch sich bewegendes Stähchen	»	Detto	Nach 24 Std. stark. Vergärung	Nach 4 Tagen Fluoreszenz und Entfärbung	Grobflockige Koagulation nach 60 Std., Reakt. sauer	Deutlich. Säurebildg.; Flüssigkeit klar, fadenartig Bodensatz	Spärliche Indolbild. nach 6 Tagen	3
9	Gartenbrunnen, sehr schlecht gedeckt, Einlaufbecken wird zum Waschen benutzt, Waschwasser fliefst in den Brunnen zurück	Detto	Kurzstäbch. mit langsamer Bewegung	»	Diffuse Trübung, Bodensatz schlammig	Nach 24 Std. sehr intensive Vergärung	Starke Entfärbung und Fluoreszenz	Kompakte Koagulation nach 24 Std., Reaktion sauer	Starke Säurebildung; Flüssigkeit klar, flockiger Bodensatz	Schwach positiv nach 3 Tagen	3528
10	Hofbrunnen, gut gehalten, undichter Kanal in 1 m Entfernung	Detto	Detto	»	Diffuse Trübung, fadenart. Bodensatz	Starke Vergärung nach 24 Std.	Nach 48 Std. deutliche Entfärbung und Fluoreszenz	Kompakte Koagulation nach 3 Tagen, Reaktion sauer	Starke Säurebildung; Flüssigkeit diffus trüb, Bodensatz flockig	Nach 3 Tagen intensive Indolbildung	8 verflüssigt
11	Sehr alter Hofbrunnen mit schlecht. Abflufs	Opake Kolonie	Kurzstäbch. mit mäfsiger pendelnder Beweg. ohne Ortsverändg.	»	Diffuse Trübung, mit flockigem Bodensatz	Nach 24 St. stark. Vergärung hervorrufend	Nach 48 Std. Entfärbung und Fluoreszenz nur partiell	Kompakte Koagulation nach 36 Std., Reaktion sauer	Geringe Säurebildung; klare Flüssigkeit, Bodens. flockig	Schwach nach 4 Tagen	14

1) Fünfmal zu verschiedenen Zeiten geprüft, ergibt obigen Durchschnitt. Die Leitung wird durch Grund- und filtriertes Flufswasser gespeist.

2) Stets nach 48 Stunden untersucht; Bruttemperatur 37° C.

3) In den Brunnen Nr. 2, 3, 5 wurden auch anderweitige Bakterien der Koligruppe gefunden, die in den Tabellen nicht näher beschrieben wurden.

Tabelle III. II. Brunnen mit dem Befunde von anderweitigen Bakterien aus der Koligruppe.

Nr	Brunnen	Form der kolіähnlichen Kolonien auf d. Gelatineplatte	Beweglichkeit und Größe des Bakteriums	Gram	Wachstum in Bouillon	Verhalten in Zuckeragar	Verhalten in Neutralrot-Agar	Wachstum in Milch	Wachstum in Lackmusmolke	Indolbildung	Keimzahl pro ccm Wasser
1	Gartenbrunnen, gute Anlage, gedüngt. Gemüsebeete in der Umgebung	Typisches Weinblatt	Kurzstäbchen mit sehr geringer Beweglichkeit	Negativ	Diffuse Trübung mit flockigem Bodensatz	Spärliche Vergärung nach 48 Std.	Bleibt unverändert	Feinflockige Koagulation, sauere Reaktion nach 4 Tagen	Spur von Säurebildung; klare Flüssigkeit, geringer, flockiger Bodensatz	0	454
2	Hofbrunnen, stagnierend. Wasser im Einlaufstökkel, Umgebung unrein	Detto	Mittelgrofses, lebhaft sich bewegendes Stäbchen	»	Detto	Äufserst geringe Gasbildung	Sehr spärliche Entfärbung und Fluoreszenz nach 48 Stunden	Koagulation nach 36 Stunden, Reaktion sauer	Intensive Rötung, Flüssigkeit klar, flockiger Bodensatz	0	455
3	Gartenbrunnen, wurde zur Zeit der Untersuchg. leergepumpt u. gemessen	Typisches Koliweinblatt	Kurzstähchen mit »fischartiger Lokomotion«	»	Diffuse Trübung, sehr zart. Häutch., Bodens. flockig	Sehr intensive Vergärung nach 24 Std.	Starke Entfärbung und Fluoreszenz nach 24 Stunden	Kompakte Koagulation nach 48 Stunden, Reaktion sauer	Intensiv. Säurebildung; Flüssigkeit diffus trüb, zartes Häutchen, flokkiger Bodensatz	0	1462
4	Hofbrunnen, tadellose Anlage	Opake Kolonie	Kurzstäbchen mit sehr geringer Beweglichkeit	»	Diffuse Trübung, fadenart. Bodens.	Nach 12 Std. intensive Vergär.	Entfärbung, sehr schöne Fluoreszenz nach 12 Std.	Feinflockige Koagulation nach 60 Std., Reakt. sauer	Intensiv. Säurebildung; Flüssigkeit klar, Bodens. flockig, fadenartig	0	89
5	Hofbrunnen, sehr altes morsches Brunnenhaus, insuffizient. Pumpe	Typisches Weinblatt	Kurzstäbchen mit lebhafter »fischartiger Lokomotion«	»	Detto	Nach 6 Stunden sehr intensive Vergärung	Sehr starke Entfärbung und Fluoreszenz nach 12 Std.	Kompakte Koagulation nach 60 Stunden, Reakt. sauer	Detto	0	93

6	Brunnen auf offenem Feld, schlecht gedeckt, stark getrübtes Wasser	Typisches Weinblatt	Kurzstäbchen mit lebhafter »fischartiger Lokomotion«	Negativ	Diffuse Trübung, wolkenartiger, sehr voluminöser Bodens.	Nach 6 Stunden intensive Gasbildung	Sehr starke Entfärbung und Fluoreszenz nach 12 Stunden	Keine Koagulation, Reaktion amphoter	Keine Säurebildung; Flüssigkeit trüb, wolkiger Bodensatz	Nach 5 Tagen schwach positiv	31
7	Hofbrunnen, völlig einwandsfrei	Opake Kolonie	Kurzstäbchen mit geringer Bewegung	»	Diffuse Trübung, Spur eines Häutch., flockiger Bodens.	Keine Vergärung	Nach 48 Stunden sehr geringe Entfärbung und Fluoreszenz	Feinflockige Koagulation nach 3 Tagen, Reakt. sauer	Geringe Säurebildung; Flüssigkeit trüb, flockig. Bodensatz, zartes Häutchen	Nach 4 Tagen schwach positiv	8
8	Hofbrunnen mit stagnierendem Wasser, im Einlaufstöckel undicht	Sehr zartes Häntchen, irisierend, gelappt, gekörnt	Mittelgrofses Stäbchen mit lebhafter »fischartiger Lokomotion«	»	Diffuse Trübung, fadenartiger Bodensatz	Vergärung nach 48 Std. sehr gering	Nach 24 Stunden Entfärbung und Fluoreszenz partiell	Keine Koagulation, Reaktion amphoter	Keine Säurebildung; trübe Flüssigkeit, fadenartiger Bodensatz	0	128
9	Hofbrunnen, einwandsfrei	Opake Kolonie	Diffuses Kurzstäbch. mit geringer Beweglichk.	»	Diffuse Trübung, flockiger Bodensatz	Keine Vergärung	Bleibt unverändert	Kompakte Koagulation nach 4 Tagen, Reakt. sauer	Starke Säurebildung, diffuse Trübung der Flüssigkeit, flockig. Bodens.	Schwach nach 4 Tagen	48
10	Hofbrunnen, schlechter Abfluſs, gesprungene Deckplatte	Typisches Weinblatt	Kurzstäbchen, lebhaft beweglich	»	Diffuse Trübung, fadenartiger Bodens.	Sehr intensive Gasbildung nach 24 Std.	Detto	Keine Koagulation, Reaktion schwach sauer	Spur von Säurebildung; Flüssigkeit trüb, fadenartiger Bodensatz	Nach 3 Tagen schwach positiv	312

Nr.	Brunnen	Form der Kolonien auf d. Gelatineplatte	Beweglichkeit und Gröfse des Bakteriums	Gram	Wachstum in Bouillon	Verhalten in Zuckeragar	Verhalten in Neutralrot-Agar	Wachstum in Milch	Wachstum in Lackmusmolke	Indolbildung	Keimzahl pro ccm Wasser
11	Hofbrunnen, schlecht gedeckt	Typisches Weinblatt	Kurzstäbchen, lebhaft beweglich	Negativ	Diffuse Trübung, fadenart. Bodens.	Keine Gasbildung	Bleibt unverändert	Kompakte Koagulation, nach 24 Std. Reakt. sauer	Intensiv. Säurebildung; Flüssigkeit diffus trüb, fadenart. Bodensatz	Nach 4 Tagen schwache Indolbildung	39
12	Hofbrunnen, einwandsfrei, in 2 m Entfernung ein undichter Kanal mit stagn. Wasser	Detto	Detto	»	Detto	Sehr geringe Gasbildung nach 48 Std.	Totale Entfärbung, sehr deutliche Fluoreszenz nach 48 Stunden	Keine Koagulation, Reaktion sehr schwach sauer	Spur Säurebildung; diffus getrübte Flüssigkeit, Bodensatz fadenartig	Detto	123
13	Hofbrunnen, stagnierendes Waseer im schlecht gemauerten Abflufs	Opake Kolonie	Mittelgrofses Stäbchen mit langsam schlängelnd. Bewegung	»	Detto	Nach 6 Stunden Vergärung	Totale Entfärbung, sehr deutliche Fluoreszenz nach 24 Std.	Grobflockige Koagulation nach 7 Tagen, Reakt. sauer	Geringe Säurebildung; klare Flüssigkeit, Bodensatz fadenartig	0	∞
14	Wasserleitungswasser aus einem Privathaus, Hahn 1 Std. geöffnet	Sehr zarte, durchschein., irisierend. gelappte, granuliert. Kolonie	Lebhaft sich schlängelndes Kurzstäbchen	»	Detto	Starke Gasbildung nach 24 Std.	Entfärbung und Fluoreszenz nach 48 Stunden	Nach 24 Stunden kompakte Koagulation, Reaktion sauer	Nach 24 Std. intensive Säurebildung; klare Flüssigkeit, fadenartiger Bodensatz	0	37
15	Hofbrunnen, vortreffliche Anlage	Opake Kolonie	Kurzstäbchen mit sehr geringer Beweglichkeit	»	Detto	Sehr spärliche Gasbildung	Detto	Flockenbildung nach 48 Stunden, Reakt. sauer	Nach 24 St. geringe Säurebildung, klar. Flüssigkeit, Bodensatz fadenartig	0	78

Tabelle IV.

III. Brunnen, die weder typische Koli noch anderweitige Bakterien aus der Koligruppe enthalten.

Nr.	Beschaffenheit des Brunnens	Keimzahl pro ccm Wasser
1	Einwandsfreier Hofbrunn.	17
2	Hofbrunnen, mit Holz gedeckt, jedoch vollkommen dicht	11
3	Hofbrunnen mit eisernem Steigrohr, tadellose Anlage	47
4	Gartenbrunnen, 18 m tief, Anlage völlig einwandsfrei	96
5	Hofbrunnen, gut gedeckt, selten benützt	36
6	Hofbrunnen, einwandsfrei angelegt	22
7	Gartenbrunnen, sehr stark in Gebrauch, Anlage vorzüglich	36
8	Hofbrunnen, nie benützt, Anlage sehr gut	260
9	Brunnen in einer Mauernische in einem Hof; gegen aufsen völlig abgeschlossen, nur das Ausflufsrohr sichtbar	30
10	Wasserwerksbrunnen, nach aufsen völlig abgeschlossen. Probe einem Hahn des Hauptrohres entnommen	0—3
11	Hofbrunnen des Wasserwerks, von aufsen zugänglich; Grundwasser wie oben Nr. 10	2
12	Wiesenbrunnen d. Wasserwerks, wie Nr. 11	0—2
13	Hofbrunnen, einwandsfreis Anlage	78
14	Hofbrunnen. In Entfernung von 1 m ein Ausgufs für Küchenabwasser, undicht gemauert; zweimal untersucht	9 6
15	Wie Nr. 13	13
16	Hofbrunnen. Mit Ziegel ausgemauertes Einlaufstöckel, etwas undicht. Stagnierendes Wasser	70
17	Brunnen in sehr engem Hof; tadellos gebaut	13
18	Hofbrunnen, nicht herausgemauert, jedoch gut gedeckt; baufälliges Brunnenhäuschen	9
19	Wie Nr. 16	108
20	Neu entdeckte Quelle auf einer Wiese, gar nicht gefafst, sehr wasserreich. Probe einem ableitenden Rohr entnommen	8
21	Hofbrunnen, wie Nr. 13	34
22	Hofbrunnen in 2 m Entfernung von einem Pferdestall; Brunnenanlage eine sehr gute.	10
23	Nicht gefafste Quelle in unbebauter Waldgegend	15
24	Wie Nr. 23	10

Vielfach findet man den Abfluſs, das sog. »Einlaufstöckel« sehr undicht, ein Übelstand, der das Einsickern des abflieſsenden Wassers in den Brunnenschacht leicht ermöglicht, zumal die Zementschicht durch das allmähliche »Nachsitzen« des Mauerwerks leicht rissig wird.

Vor jeder Probeeutnahme wurde der Brunnen auf 5 Minuten ausgepumpt und hierauf die bereitstehenden Heuiufus-Kolben und Reagenzgläser an Ort uud Stelle mit Wasser gefüllt. Letztere, welche die Proben zur Bestimmung der Keimzahl enthielten, kamen spätesteus 1 Stunde nach der Wasserentnahme zur Untersuchung.

Die Platten, aus 12 proz. Gelatine gegossen, wurden zweimal 48 Stunden bebrütet und nach Wolffhügel gezählt. Mit den Kolben wurde, wie oben beschrieben, verfahren.

Die bakteriologische Untersuchung gestattet es mir, die Brunnen folgendermaſsen einzuteilen:

I. In Brunnen mit dem Befunde von typischem Bacterium coli commune. 22% aller Fälle. Als charakteristisch für dieses gelten: Mangelnde Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, Kurzstäbchenform, Gramnegativität, das Vermögen, Traubenzucker zu vergären, Indol zu bilden und Milch unter sauerer Reaktion zu koagulieren.

II. In Brunnen mit dem Befunde von anderweitigen Bakterien aus der Koligruppe (kein typisches Koli), 30% aller Fälle, worunter Individuen verstanden werden, denen die eine oder andere, oder auch mehrere der Eigenschaften des typischen Koli abgehen, als: Gasbildung, Milchkoagulation, Indolbildung.

III. Brunnen, die weder typisches Koli, noch anderweitige Bakterien aus der Koligruppe enthalten. 48%. Koli im weiteren Sinne wurde also in 52% aller Fälle gefundeu.

Wie bereits betont, wurde auf das morphologische Verhalten der verschiedenen Kolitypen nicht ausschlieſslich Wert gelegt.

Hier habe ich namentlich die Form der Plattenkolonie aus dem angereicherten Material im Auge.

Bekanntlich ist die Form der Kolonie bei derselben Art keine konstante, sondern soll, abgesehen von den verschiedenen anderen sie beeinflussenden Faktoren, auch abhängig sein von gewissen biologischen Eigenschaften der sie zusammensetzenden Individuen. So behauptete dies Ehrenfest[29]) von den opaken Kolonien, welche »sukkulente, fast vollkommen kreisförmig und oft eine aus konzentrisch um einen Nabel gelegten Ringen bestehende Zeichnung besitzen«, und nimmt als Entstehungsursache physikalisch-mechanische Einflüsse an. »Während bei den unbeweglichen Kulturen die Ausbreitung der Kolonie in der Fläche hauptsächlich durch den Druck der neugebildeten Bakterienmasse bewirkt wird, worin auch die ringförmige Zeichnung ihre Erklärung findet, haben wir es bei den beweglichen Kulturen mit einem direkten aktiven Weiterschreiten zu tun, wodurch die gebildeten Kolonien zart bleiben, einen gröfseren Umfang erreichen und nicht an die Kreisform gebunden sind.«

Solche opake Kolonien fanden sich in neun Fällen sowohl als Kolonieform des typischen Bacillus coli, als auch als solche von »Bakterien aus der Koligruppe.«

Ich halte die gesonderte Erwähnung dieser Kolonieform auch deshalb für wichtig, weil die Zahl der kolipositiven Brunnen eine geringere gewesen wäre, hätte ich mich damit begnügt, ausschliefslich weinblattähnliche Kolonien in Betracht zu ziehen, wie dies z. B. Weifsenfeld tut. Eine Umzüchtung der opaken Form in die des typischen Weinblattes durch Milchpassage, wie sie Laruelle (zitiert bei Pfaundler) angibt, ist mir trotz zahlreicher Versuche niemals gelungen.

In einem Falle fand sich auch eine Kolonie von jenem Typus, den Decleman[30]) als »bei schwacher Vergröfserung netzläufig mit blätterrippenartiger Zeichnung« beschreibt.

Die Form der Einzelindividuen war meist die eines Kurzstäbchens, vereinzelt die eines mittelgrofsen Stäbchens, die Beweglichkeit gröfstenteils eine sehr geringe, manchmal konnte man eine lebhafte »fischartige Lokomotion« beobachten.

Die Gelatinestichkulturen habe ich in die Tabellen nicht aufgenommen, da sie von den Plattenkulturen zu wenig abwichen, um gesondert beschrieben zu werden. Das Wachstum im Stichkanal war stets ein minimales.

Auch die Bouillonkulturen bieten zu wenig Charakteristisches, um näher besprochen zu werden, zweimal wurde bereits nach 48stündiger Bebrütung Häutchenbildung angetroffen.

Als Zuckeragar wurde solches mit 0,75% Zuckerzusatz benutzt und die Schüttelkulturen bei 37° bebrütet. In drei Fällen fehlte die Gasbildung vollkommen, trotz wiederholter Versuche.

Die Entfärbung des Neutralrotagar, nach Rothbergers Vorschrift bereitet, trat gewöhnlich nach 48 Stunden auf und fehlte in vier Fällen.

Die Milch zeigte entweder blofs Flockenbildung oder kompakte Koagulation zu Klumpen.

Was die Indolbildung betrifft, so habe ich auf Grund einer gröfseren Versuchsreihe stets eine 5proz. Lösung von Pepton Witte zu deren Beobachtung benutzt, da die Reaktion in dieser Lösung stets am schönsten ausfiel. Es wurden gröfsere Mengen mit dem zu untersuchenden Material geimpft und in bestimmten Intervallen auf Indolbildung nach Kitasato untersucht, wobei das vorherige Erwärmen bis nahe zum Siedepunkt den positiven Ausfall der Reaktion sehr begünstigte. Die Röhrchen wurden durch 20 Tage kontrolliert und stets das erste Auftreten der Reaktion verzeichnet. Neunmal fehlte sie vollkommen, in seltenen Fällen wurde eine nachträgliche Steigerung der Intensität beobachtet.

Wie dem Vorhergehenden zu entnehmen, erwiesen sich 48% der untersuchten Brunnen als kolifrei.

Nach diesem Befunde halte ich mich für berechtigt, die Ansicht von der »Ubiquität des Kolibazillus«, ja selbst der Koliarten als irrig hinzustellen. Es geht nicht an, nach Art mancher Autoren die Schlüsse, die man aus einzelnen Versuchen zieht, auf die Allgemeinheit zu übertragen. Welche die Ursache der allgemeinen Verbreitung des

Kolibazillus an einzelnen Orten sein mag, entzieht sich meiner Beurteilung; dafs sich aber in Wässern mit Tausenden von Keimen pro Kubikzentimeter auch Koli oder Koliarten finden, ist wohl kein Wunder zu nennen.

In der Mehrzahl der Fälle, wenn auch nicht immer, war auch bei meinen Versuchen der Befund des Koli mit dem einer gröfseren Keimzahl verbunden. Eine absolut strenge Gesetzmäfsigkeit liefs sich jedoch hierin nicht erkennen, immerhin konnte man aber einen gewissen Zusammenhang zwischen der Beschaffenheit des Brunnens bzw. ihrem absoluten Keimgehalte und dem Befund des Bacterium coli feststellen.

Auf den folgenden Tabellen sind diese Verhältnisse illustriert.

Tabelle V.

Brunnen mit dem Keimgehalt über 200 pro Kubikzentimeter Wasser.

Nr. des Brunnens	Keimzahl	Befund	Koli im weiteren Sinne, gefunden in % der Fälle
I 10	∞	Typ. Koli	90,9 %
II 13	∞	Anderweitige Bakt. der Koligruppe	
II 7	∞	Detto	
I 9	3528	Typ. Koli	
II 3	1462	Anderweitige Bakt. der Koligruppe	
I 3	1400	Typ. Koli	
II 2	455	Anderweitige Bakt. der Koligruppe	
II 1	454	Detto	
II 10	312	Detto	
III 8	260	0	
I 2	212	Typ. Koli	

Brunnen mit dem Keimgehalt über 50 pro Kubikzentimeter Wasser.

Nr. des Brunnens	Keimzahl	Befund	Koli im weiteren Sinne, gefunden in % der Fälle
II 8	128	Anderweitige Bakt. der Koligruppe	66,6 %
II 12	123	Detto	
III 19	108	0	
III 4	96	0	
II 5	93	Anderweitige Bakt. der Koligruppe	
I 5	93	Typ. Koli	
I 4	89	Detto	
I 7	89	Detto	
II 4	89	Anderweitige Bakt. der Koligruppe	
II 15	78	Detto	
III 13	78	0	
III 16	70	0	

Brunnen mit dem Keimgehalt unter 50 pro Kubikzentimeter Wasser.

Nr. des Brunnens	Keimzahl	Befund	Koli im weiteren Sinne, gefunden in % der Fälle
III 1	17	0	26,9 %
III 2	11	0	
III 3	47	0	
III 5	36	0	
III 6	22	0	
III 7	36	0	
III 9	30	0	
III 10	3	0	
III 11	2	0	
III 12	2	0	
III 14	9	0	
III 15	13	0	
III 17	13	0	
III 18	9	0	

Nr. des Brunnens	Keimzahl	Befund	Koli im weiteren Sinne, gefunden in % der Fälle
III 20	8	0	26,9 %
III 21	34	0	
III 22	10	0	
III 23	15	0	
III 24	10	0	
II 14	37	Anderweitige Bakterien der Koligruppe	
II 9	48	Detto	
II 11	39	Detto	
I 11	14	Typ. Koli	
I 6	3	Detto	
I 8	3	Detto	
II 6	51	Anderweitige Bakterien der Koligruppe	

Einwandsfreie Brunnen.

I 4	Kolihaltig	30,7 % Koli im weiteren Sinne, darunter 15,3 % typisches Koli
I 1	»	
I 6	»	
I 7	»	
II 4	»	
II 7	»	
II 9	»	
II 15	»	
III 1	Kolifrei	
III 2	»	
III 3	»	
III 4	»	
III 5	»	
III 6	»	
III 7	»	
III 8	»	
III 9	»	
III 10	»	
III 11	»	
III 12	»	
III 13	»	
III 15	»	
III 17	»	
III 21	»	
III 22	»	
III 23	»	

Verdächtige Brunnen.

I 2	Kolihaltig	80,9 % Koli im weiteren Sinne, darunter 33,3 % typisches Koli
I 3	»	
I 5	»	
I 8	»	
I 9	»	
I 10	»	
I 11	»	
II 1	»	
II 2	»	
II 3	»	
II 5	»	
II 6	»	
II 8	»	
II 10	»	
II 11	»	
II 12	»	
II 13	»	
III 14	Kolifrei	
III 16	»	
III 18	»	
III 19	»	

Zum Zwecke leichterer Übersicht habe ich hier die Brunnen eingeteilt in:

I. solche mit der Keimzahl über 200 pro Kubikzentimeter Wasser,

II. solche mit der Keimzahl zwischen 50 und 200 pro Kubikzentimeter Wasser, und

III. in solche mit der Keimzahl unter 50 pro Kubikzentimeter Wasser.

Es ergab sich, dafs bei der

I. Gruppe in 90,9 % Koli (hier typische Koli + koliartige) gefunden wurden, bei der

II. Gruppe in 66,6 %, bei der

III. Gruppe in 26,9 %,

so dafs also bei den keimärmsten Brunnen auch Koli am seltensten zur Beobachtung kam.

Ein analoges Resultat ergibt die Zusammenstellung der Brunnen nach ihrer, durch die Lokalinspektion festgestellten Beschaffenheit.

Während bei einwandsfreien Brunnen nur in 30,7 % Koli gefunden wurde, konnte man dieses bei den von vornherein verdächtigen Brunnen in 80,9 % nachweisen. Hierbei mufs ich jedoch ausdrücklich bemerken, dafs das Attribut »einwandsfrei« nur auf Grund einer äufserlichen Besichtigung der Brunnen erteilt wurde, da sich leider die Eröffnung des Schachtes als praktisch undurchführbar erwies. Dieser Übelstand schliefst die Wahrscheinlichkeit nicht aus, dafs noch ein gewisser Prozentsatz der einwandsfreien aber kolihaltigen Brunnen sich bei innerer Inspektion als verdächtig herausgestellt hätte. Anderseits hätte vielleicht auch wiederholte Untersuchung der kolifreien, aber auf Grund der Lokalinspektion für verdächtig erklärten Brunnen doch noch hie und da den Befund von Koli ergeben.

Etwas anders gestaltet sich das Verhältnis, wenn man lediglich auf typisches Koli hin untersucht. Bei einem Gesamtbefund von 22 % aller untersuchten Wässer trifft man typisches Koli bei einwandsfreien Brunnen in 15,3 %, bei verdächtigen Brunnen in 33,3 %.

Darf man nun aus diesen Resultaten einen Schlufs auf die Verwertbarkeit **des Koli als ausschliefslichen Indikator für Fäkalverunreinigung** ziehen oder nicht?

Meine diesbezüglichen Untersuchungen ergaben erstens, dafs das Koli mit steigender Keimzahl in steigendem Prozentsatz zu finden ist, und zweitens, dafs in Brunnen, die auf Grund einer äufserlichen Besichtigung als verdächtig bezeichnet wurden, das Koli häufiger angetroffen wurde als in solchen, die ich für einwandsfreie erklärte.

Diese Tatsachen sprechen mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit zugunsten des Koli als Index für Brunnenwasserverunreinigung. Zu einer präzisen Beantwortung obiger Frage auf Grund meiner Untersuchungen halte ich mich nicht berechtigt, da denselben unbedingt eine genaue Inspektion des Brunneninnern hätte vorausgehen müssen.

Soll ich nun noch das Gesamtergebnis meiner Arbeit in kurzen Worten übersichtlich machen, so komme ich zu folgenden Schlufssätzen:

I. **Zum Nachweise des Kolibazillus eignet sich vortrefflich 3proz. Heuinfus.**

II. **Die Ansicht, das typische Bacterium coli oder die Koliarten seien in Brunnenwässern allgemein verbreitet, ist irrig.**

III. **Eine gewisse Wahrscheinlichkeit spricht zugunsten der Verwertung des Bacterium coli als Indikator für Fäkalverunreinigung.**

Zum Schlusse möchte ich noch meinem verehrten Chef, Herrn Prof **Prausnitz**, für die Anregung zu diesem Thema, und das Interesse, welches er an dem Fortgang desselben nahm, meinen aufrichtigsten Dank aussprechen, und ebenso den Herren Privatdozenten Dr. **Hammerl** und Dr. P. Th. **Müller** für die mir jederzeit zuteil gewordene liebenswürdigste Unterstützung.

Anmerkung.

Durch ein Versehen unterblieb die Angabe, dafs zu den Anreicherungsversuchen mit Heuinfus stets 1 Liter Brunnenwasser verwendet wurde.

Literaturverzeichnis.

1. A. Gärtner, Über Methoden, die Möglichkeit der Infektion eines Wassers zu beurteilen. (Sonderabdruck aus d. Festschrift zur 100jährigen Stiftungsfeier d. med.-chir. Friedrich Wilhelm-Instituts. Berlin 1895.)
2. Lehmann, Die Methoden der praktischen Hygiene.
3. Kruse, Zur hygienischen Beurteilung des Wassers. Zeitschr. f. Hyg., Bd. XVII, S. 53.
4. J. Weifsenfeld, Der Befund des Bacterium coli im Wasser und das Tierexperiment sind keine brauchbaren Hilfsmittel für die hygienische Beurteilung des Wassers. Zeitschr. f. Hyg., Bd. XXXV, S. 80.
5. Henke, Beitrag zur Verbreitung des Bacterium coli commune in der Aufsenwelt und der von Gärtner beschriebene Gasbildner. Centralbl. f. Bakt., Bd. XVI, S. 481.
6. Loeffler, Unification des procédés d'analyse bactériologique des eaux. Comptes rendu du congrès, tome II, I. divis. sect., I. quest 4.
7. Schardinger, Beitrag zur hygienischen Beurteilung des Trinkwassers. Centralbl. f. Bakt., Bd. XVI, S. 853.
8. Dunbar, Untersuchungen über den Typhusbazillus und den Bacillus coli commune. Zeitschr. f. Hyg., Bd. XII, S. 484.
9. Kübler und Neufeld, Über einen Befund von Typhusbazillen im Brunnenwasser. Zeitschr. f. Hyg., Bd. XXXI, S. 133.
10. Mez, Mikroskopische Wasseranalyse. Julius Springer, Berlin 1898.
11. Mausburger und Rambousek, Beitrag zum bakteriologischen Nachweise von Trinkwasserverunreinigungen anläfslich infektiöser Erkrankungen. Centralbl. f. Bakt., XXXII, S. 476.
12. Chick, Hariette, The distribution of Bact. coli commune. Ref. von C. Fränkel, Hygien. Rundschau, Bd. XII, S. 647.
13. Th. Escherich und M. Pfaundler, Bacterium coli commune. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, herausgeg. von W. Kolle und A. Wassermann, Bd. II, S. 334.
14. Petruschky und Pusch Bacterium coli als Indikator für Fäkalverunreinigung von Wasser. Zeitschr. f. Hyg., Bd. XLIII, S. 304.
15. Hirschbruch und Schwer, Prüfung des Typhusnährbodens nach v. Drigalski und H. Conradi und einer nach ähnlichen Prinzipien hergestellten Bouillon. Hyg. Rundschau, Bd. XIII, S. 864.
16. Papasotiriu, Untersuchungen über das Vorkommen des Bacterium coli in Teig, Mehl und Getreide, nebst einigen Bemerkungen über die Bedeutung des Bacterium coli als Indikator für Verunreinigung von Wasser mit Fäkalien. Archiv f. Hyg., Bd. XLI, S. 204.

17. v. Freudenreich, Über den Nachweis des Bacillus coli communis im Wasser und dessen Bedeutung. Centralbl. f. Bakt., Bd. XVIII, S. 102.
18. Thoinot, M., Sur la présence dn bacille de la fièvre typhoide dans l'eau de la Seine à Ivry. (La semaine médicale, 1887, Nr. 14, p. 135.)
19. Chantemesse et Widal, Le bacille typhique. (Gaz. hebd. de méd. et de chir., 1887, Nr. 9.)
Chantemesse, A. et F. Widal, Recherches sur le bacille typhique et l'étiologie de la fièvre typhoide. (Arch. de Phys. norm. et path., 1887, Nr. 2, p. 217.)
20. Péré, Contribution à l'étude des eaux d'Alger. (Annales de l'Institut Pasteur, 1891, Nr. 2, p. 79.)
21. Vincent, Sur un nouveau procédé d'isolement dn bacille typhique dans l'eau. (Compt. rend. hebd. des séances de la biologie, 1890, Nr. 5.)
22. Kleiber, Qualitative und qnantitative Untersuchungen des Zürichersee-wassers. (Hyg. Instit. d. Universität Zürich; zitiert bei Bnrri, Hyg. Rnndschau, Bd. V, Nr. 2.)
23. Burri, Nachweis von Fäkalbakterien im Trinkwasser. Hyg. Rundschau, B. V, S. 49.
24. Graziani, De l'emploi des phthaléines pour reconnaître le colibacille, le bacille d'Eberth et celui du choléra. Arch. de méd. expér., 1889.
25. Abba, Über ein Verfahren, den Bacillus coli commnnis schnell nnd sicher aus dem Wasser zu isolieren. Centralbl. f. Bakt., Bd. XIX, S. 13.
26. Smith, Th., Notes on Bacillus coli communis and related forms; together with some suggestions concerning the bacteriological examination of drinking-water. (The American Journal of med. sciences, Vol. CX, 1895, Nr. 3.)
27. Lignières, Nouveau moyen d'isolement du colibacille. Compt. rend. de la soc. de biolog., 1894, p. 200.
28. Parietti, Metodo di ricerca del Bacillo del tifo nelle aque potabili. Riv. d'igiene e sanità publica, 1890.
29. Ehrenfest, H., Stndien über die »Bacterium coli ähnlichen« Mikroorganismen normaler menschlicher Fäces. Archiv f. Hyg., 1896.
30. Duleman, Vergleichende Untersuchungen über koliähnliche Bakterienarten. Centralbl. f. Bakt., Bd. 26 Nr. 16/17, 18/19 und 25.

Über verbrennliche gasförmige Kohlenstoffverbindungen in der Luft.

Von

Privatdozent Dr. **Heinrich Wolpert.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Vor nahezu 30 Jahren hat Erismann Versuche über die Verunreinigung der Luft durch künstliche Beleuchtung[1]) angestellt, welche viel zitiert werden, ohne bisher, meines Wissens wenigstens, eine Wiederholung erfahren zu haben. Eine Nachprüfung dieser Versuche mittels einer, wie ich glaube, genaueren Methodik führte mich weiterhin darauf, den Gehalt der Luft überhaupt an verbrennlichen gasförmigen Kohlenstoffverbindungen zum Gegenstand einer experimentellen Untersuchung zu machen.

Erismann ging in folgender Weise vor:

Der Versuchsraum, in welchem die Flammen brannten und aus welchem die Luft entnommen wurde, war »ein durch Holz- und Glaswände abgetrennter Teil des Laboratoriums, etwas unregelmäfsig geformt, von etwa 10 cbm Inhalt. Das Gemach enthielt eine ehemalige Kutte, deren Züge jedoch verschlossen waren, so dafs unter gewöhnlichen Umständen eine erhebliche Ventilation des Raumes durch dieselben nicht stattfinden konnte. Nur bei starkem Westwind machte sich die Anwesenheit der Züge trotz des Verschlusses fühlbar.« Durch Beleuchtung mittels

1) Zeitschr. f. Biologie, 1876, Bd. 12, S. 315.

Leuchtgas, Petroleum, Stearinkerzen usw. wurde der Kohlensäuregehalt der Luft in diesem Versuchsraum bis auf etwa 2,5 ‰ erhöht; während des Brennens der Flammen wurden von zwei Aspiratoren je 15—18 l Luft innerhalb etwa 8 Stunden kontinuierlich zum Zwecke der Untersuchung entnommen.

»Die Luft wurde aus dem Versuchsraum durch eine anfangs gemeinsame, aber später sich teilende Röhre vermittelst zweier Flaschenaspiratoren nach verschiedenen Seiten hin angesogen und auf der einen Seite zur Bestimmung der vorhandenen Kohlensäure durch Barytröhren geleitet, auf der anderen Seite dagegen mufste sie, bevor sie zu den Barytröhren gelangen konnte, erst eine in beständiger Rotglühhitze unterhaltene Röhre mit Kupferoxyd (in einem der üblichen, mit Leuchtgas angeheizten Verbrennungsöfen gelagert) durchstreichen, so dafs die etwa vorhandenen, leicht verbrennlichen Kohlenwasserstoffverbindungen[1]) zu Kohlensäure und Wasser verbrennen mufsten. Das Plus der Kohlensäure auf dieser Seite über die auf der anderen Seite gefundene Menge derselben stellte die aus den in der Röhre verbrannten Kohlenwasserstoffen erhaltene Quantität Kohlensäure dar. Aus ihr wurde der Kohlenstoff berechnet, und hieraus konnte man, unter der allerdings willkürlichen Annahme, dafs die verbrannten Kohlenwasserstoffe alle die Zusammensetzung des Sumpfgases hatten, die Gewichts- und Volumenmenge derselben in allen Fällen mit Leichtigkeit ableiten.[2]) Dieses Verfahren ist nicht ganz genau ......, aber es gibt ein Bild von der relativen Verderbnis der Atmosphäre bei Anwendung verschiedener Beleuchtungsmaterialien.«

»Die angewendeten Aspiratoren waren auf Liter geeicht, und es wurde während der Versuche auf ein möglichst gleichmäfsiges Auslaufen derselben Rücksicht genommen. Dies war deshalb nötig, weil während der achtstündigen Dauer der Versuche

1) Aufser den Kohlenwasserstoffen verbrannte in der Verbrennungsröhre gegebenen Falles auch Kohlenoxyd.

2) Die Volum-Promille der durch die Verbrennung erhaltenen Kohlensäure-Mehrung sind ohne weiteres identisch mit den Volum-Promille der gasförmigen Kohlenstoffverbindungen, wie des Methans, des Kohlenoxyds usw., welche die Luft vor der Verbrennung enthielt

begreiflicherweise die Beschaffenheit der Luft sich fortwährend änderte, indem die Menge der ihr beigemischten Verbrennungsprodukte allmählich stieg. Wenn aber z. B. der eine Aspirator zu Anfang, der andere am Ende des Versuchs eine gröfsere Luftmenge angesogen hätte, so wäre damit ein nicht unerheblicher Fehler im Versuchsresultat entstanden — in dem Sinne, dafs der erstere eine gröfsere Quantität noch reinerer Luft zur Untersuchung geliefert hätte als der letztere. Zur möglichsten Vermeidung dieses Fehlers wurden übrigens, aufser strenger Kontrolle des gleichmäfsigen Ganges beider Aspiratoren, an der Teilungsstelle der die zu untersuchende Luft führenden Röhre ein mehr als ½ l haltender Kolben eingefügt, aus welchem die Aspiratoren unmittelbar die Luft entnahmen.« »Obgleich auf diese Weise auch bei momentan stärkerer oder schwächerer Wirkung eines der beiden Aspiratoren ein Gleichbleiben der Luftqualität auf beiden Seiten bis zu einem gewissen Grade garantiert war, so bin ich doch geneigt, einzelne Abweichungen in den Versuchsresultaten wenigstens teilweise dem Umstande zuzuschreiben, dafs bei der langen Dauer der Versuche, wobei ich natürlich nicht fortwährend den Gang der Aspiratoren kontrollieren konnte, zuweilen längere Zeit hindurch die Aspiration auf der einen Seite etwas stärker oder schwächer gewesen war als auf der anderen.«

Diese Versuchsanordnung vervollkommnete ich nach mehreren Richtungen.

1. An Stelle des Bretterverschlags wurde ein luftdicht schliefsender Versuchsraum, der etwa 7 cbm fassende Eisenblechkasten unseres Pettenkoferschen Respirationsapparats, benutzt. Hierin brannte die Lampe eine bestimmte Zeit, wurde dann gelöscht, und alsdann erst wurde Luft zur Untersuchung abgesaugt.

2. Statt der Aspiratoren kam ein Pumpwerk in Anwendung. Während bei Erismanns Versuchsanordnung im ganzen System, vor allem in der Verbrennungsröhre und in den Barytröhren, ein Unterdruck herrschte, so dafs etwaige geringe Undichtigkeiten kohlensäurereiche Luft eindringen liefsen, wurde

bei meiner Anordnuug die Luft aus dem Kasten augesaugt, um jedoch anderseits durch die Verbrennungsröhre und die Barytröhren hindurchgeprefst und in genau zeigenden Gasuhren gemessen zu werden.

3. Statt der im Feuer bei langer Versuchszeit leicht sich verbiegenden uud unbrauchbar werdenden gläsernen Verbrennungsröhren wurden solche aus Porzellan, welche sozusagen unbeschränkte Zeit brauchbar blieben, verwendet. Diese Porzellanröhren waren sowohl aufsen wie innen glasiert.

4. An Stelle des üblichen Gasverbrennungsofens, welcher die Zimmerluft verunreinigt, trat (in Versuch Nr. 38—108) nach Angaben von Geheimrat Rubner eine elektrische Verbrennungseinrichtung: Die Porzellanröhre konnte in eine Schamotteröhre eingeschoben werden, welche mit Platindraht umwickelt und, zum Schutz gegen übermäfsige Wärmeabgabe nach aufsen, durch mehrere Lagen starker Asbestpappe isoliert war. Die Einschaltung eines elektrischen Widerstandes gestattete hierbei, die Temperatur der Röhre innerhalb sehr weiter Grenzen zu regulieren. Zur Erreichung der gewünschten dunklen Rotglut verbrauchte eine Röhre 215 Watt.

5. Es wurden gröfsere Luftmengen, in der Regel mindestens etwa 100, unter Umständen erheblich mehr, bis zu etwa 1000 l Luft untersucht.[1])

6. Die Luft wurde nicht parallel geführt, wie bei Erismann, sondern dieselbe Luft, welche zur Bestimmung der vorhandenen Kohlensäure durch Barytröhren geleitet war, mufste weiterhin auch die glühende, mit Kupferoxyd gefüllte Porzellanröhre und dann eine zweite Reihe von Barytröhren passieren, bevor ihre Menge in einer Gasuhr gemessen wurde.

Während Erismann die Barytröhren also parallel schaltet, schalte ich dieselben hintereinander.

Bei der Hintereinanderschaltung werden zwar nur Mindestwerte erhalten, indem ein Teil der fraglichen Gase durch Absorption in den Barytröhren der ersten Reihe zurückgehalten

1) Zum Beispiel wurden 950 l Bodenluft in Versuch Nr. 99 untersucht.

werden kann. Aber was man findet, ist sicher und kann nicht durch ungleichen Luftdurchgang, ungleiche Gasuhrenanzeige u. dgl. vorgetäuscht sein, wenn man nur darauf sieht, den Versuch nicht eher abzubrechen, als bis auch die erste Barytröhre der zweiten Reihe eine deutliche Trübung erkennen läfst.

Ein ähnliches Kriterium hat man bei Parallelschaltung nicht. Es dürfte ferner kaum möglich sein, mir wenigstens gelang es trotz gröfster Bemühungen nicht, grofse Luftmengen wie mehrere hundert Liter Luft in gleichmäfsigem Tempo durch zwei parallel geführte Reihen von Barytröhren hindurchzuleiten. Ich habe es daher schliefslich ganz aufgegeben, mit Parallelschaltung brauchbare Resultate zu erhalten, und verwerte im folgenden nur die mit Hintereinanderschaltung gewonnenen Versuchsresultate.

Die experimentelle Untersuchung der Luftverunreinigung durch Leuchtflammen führte mit Notwendigkeit auch zur Prüfung der »reinen« Luft auf analoge akzessorische Bestandteile. Diese Frage ist in einer ziemlich umfangreichen Arbeit durch Gautier behandelt worden, betitelt »Les gaz combustibles de l'air: L'hydrogène atmosphérique.«[1]) Unabhängig von diesen Publikationen hatte ich meine eigenen Untersuchungen ausgeführt und ich ersehe zu meiner Genugtuung, dafs bereits dieser berühmte Chemiker nach dem Prinzip der Hintereinanderschaltung und mit grofsen, das heifst 100 und mehr Liter betragenden Luftmengen gearbeitet, dabei gleichfalls glasierte Porzellanverbrennungsröhren benutzt hatte.

Gleichwohl halte ich meine Versuchsanordnung noch in drei Punkten der Gautierschen für überlegen. Denn:

1. Gautier verwendet wie Erismann Saugluft statt Prefsluft.
2. Verwendet Gautier noch ebenfalls wie Erismann den gewöhnlichen, mit Luftverunreinigung einhergehenden Gasverbrennungsofen, noch nicht die elektrische Verbrennungsröhre.

1) Annales de chimie et de physique, Paris 1901, VII. Serie, Bd. 22, Heft 1, S. 5.

3. Läfst die Kalilauge, welche Gautier als Absorptionsmittel der in der Verbrennungsröhre gebildeten Kohlensäure benützt, während des Versuchs nicht für das Auge, wie das von mir benützte Barytwasser durch seine Trübung, erkennen, ob im einzelnen Falle eine genügende Luftmenge oxydiert wurde und der Versuch somit beendigt werden könne.

Bei Gautier wurde die Luft zunächst a) filtriert, indem sie eine mit Glaswolle beschickte Glasröhre passierte; dann b) erstens durch flüssige Kalilauge, und zweitens noch durch mit Wasser angefeuchtete Baryumhydratkristalle zur Ergänzung, von ihrer Kohlensäure befreit; c) zum Zwecke der Trocknung durch drei Gefäfse geführt, von denen das erste Natronkalk, das zweite Glasperlen, die mit konzentrierter Schwefelsäure benetzt waren, und das dritte Phosphorsäure-Anhydrid enthielt. Von hier aus gelangte die Luft d) in den Verbrennungsofen, wo sie in einer doppelseitig glasierten Porzellanröhre über Kupferoxyd, das sich im Zustande dunkler Rotglut befand (rouge cerise sombre), geführt wurde. e) Das Verbrennungswasser wurde absorbiert in einem gewogenen, mit Phosphorsäure-Anhydrid beschickten Gefäfs. f) Die Verbrennungskohlensäure wurde, ganz wie unter b), durch zwei Gefäfse mit flüssiger Kalilauge und feuchtem Baryumhydrat absorbiert, nur dafs die Gefäfse hier gewogen wurden, und zwar zusammen mit einer weiterhin angeschlossenen, mit Phosphorsäure gefüllten U-Röhre, welche die Aufgabe hatte, das aus dem Absorptionsmittel für Kohlensäure fortgeführte Wasser zurückzuhalten; die Gewichtszunahme dieser drei Gefäfse im ganzen gab das Gewicht der gebildeten Kohlensäure. Schliefslich folgte g) zur Ansaugung und Messung der Luft ein Aspirator von etwa 100 l Inhalt, oder in einer Reihe von Versuchen statt dessen eine mit einer Gasuhr verbundene Wasserstrahlluftpumpe. Zwischen f) und g) war, zur Vermeidung einer Rückdiffusion von Wasserdampf seitens des Aspirators, noch eine mit Schwefelsäureglasperlen gefüllte Glasröhre, welche selbstverständlich nicht gewogen zu werden brauchte, eingefügt.

Bei meiner Versuchsanordnung gelangte die Luft zunächst a) nach dem Quecksilberpumpwerk, von wo sie weiter geprefst wurde b) nach einer ersten Reihe von 3—4 Barytröhren zwecks Absorption ihrer fertigen Kohlensäure; c) nach der elektrischen Verbrennungsröhre, einer doppelseitig glasierten, mit Kupferoxyd beschickten, in schöner dunkler Rotglut gehaltenen Porzellanröhre, in welcher der verbrennliche organische Anteil der durchgeführten Luft zu Kohlensäure und Wasser oxydiert wurde; d) nach einer zweiten Reihe von zwei bis drei, auch wohl mal vier Barytröhren, in welchen die Verbrennungskohlensäure absorbiert wurde; e) nach einer genau zeigenden Experimentiergasuhr, worin die durchgeprefste Luftmenge gemessen wurde. Hierbei wurde darauf geachtet, dafs die Luft, welche aus der Verbrennungsröhre kam, nicht warm in die erste Barytröhre der zweiten Reihe gelangte und ihr auch kein Verbrennungswasser zuführte. Zu diesem Behufe war zwischen c) und d) meistens eine, auf entsprechend niedriger Temperatur gehaltene leere Wulfsche Flasche eingeschaltet; von hier aus strömte die Luft durch ein Durchströmungsthermometer hindurch nach der Barytröhre I der zweiten Reihe, aus welcher sie gleichfalls durch ein Durchströmungsthermometer hindurch austrat. (Auch die aus der letzten Barytröhre der ersten Reihe nach der Verbrennungsröhre gehende Luft durchstrich, unmittelbar im Anschlufs an die Barytröhre, ein Durchströmungsthermometer.)

Zur Sicherstellung eines positiven Resultates galt es, nach Mafsgabe der auf den Durchströmungsthermometern, die in Zehntelgrade geteilt waren, abgelesenen Temperaturen, die Wulfsche Flasche oder andere Teile des Systems soweit abzukühlen, bzw. zu temperieren, dafs keinesfalls eine Volumvermehrung des in der Röhre I der zweiten Reihe enthaltenen Barytwassers eintreten konnte und eher noch eine Volumverminderung statthatte. Denn eine Verdünnung des Barytwassers im Verlauf des Versuchs hätte bei der Titration Kohlensäuremengen, die gar nicht oxydiert worden waren, vorgetäuscht, so dafs im Gegenteil bei einer Konzentration des Barytwassers

eine wenn auch geringfügige Titerabnahme um so mehr beweisend für Verbrennungskohlensäure war.

In allen Versuchen mufste die letzte Röhre der ersten Reihe jedenfalls vollkommen klar bleiben. Anderseits sollte der Versuch aber nicht früher abgeschlossen werden, als bis die erste Röhre der zweiten Reihe eine deutliche Trübung von Baryumkarbonat zeigte (bzw. nach Durchleitung mehrerer hundert Liter Luft die Hoffnung aufgegeben wurde, dafs noch eine Trübung erfolge). Beiden Forderungen liefs sich nicht stets ohne weiteres Genüge leisten.

Falls daher ein Vorversuch für bestimmte Versuchsbedingungen ergab, dafs sich, trotz einer möglichst weitgehenden Ausnutzung der Barytröhren erster Reihe, im Barytwasser jenseits der Verbrennungsröhre keine Trübung ausbildete, so wurde der Versuch in der Weise wiederholt, dafs Waschflaschen mit Kaliumhydrat in Stücken entweder an Stelle des Barytwassers der ersten Reihe verwendet, oder — wie zumeist — zur Ergänzung diesseits zwischen letzter Barytröhre und Verbrennungsröhre eingefügt wurden. Nebenher wurde alsdann gesondert der Gehalt der Luft an fertiger Kohlensäure bestimmt.

Die Messung der Kohlensäure I, der fertigen Kohlensäure, war übrigens bei weitem nicht mit gleicher Schärfe, bis auf Hundertstel eines Promille wie bei der Verbrennungskohlensäure geboten. Hier konnten die erhaltenen Werte unbedenklich auf Zehntel eines Promille, ja auf ganze Promille unter Umständen gerundet werden, wie in den folgenden Zusammenstellungen teilweise geschehen. Ein besonderes Wassergefäfs zur Anfeuchtung der nach der ersten Barytröhre strömenden Luft wurde nur in den ersten Versuchen verwendet. Denn einmal konnte offenbar ohne jeden Fehler hiervon abgesehen werden, falls nur, was in allen Versuchen zutraf, die erste Barytröhre vollkommen ausgenutzt wurde. Und dann brauchte ja, wie erwähnt, hier die Kohlensäure nur approximativ bestimmt zu werden; ein etwas zu niedriger Wert für die im Verhältnis zur Verbrennungskohlensäure gewaltig grofse Menge fertiger Kohlensäure hätte das Schlufsresultat kaum beeinträchtigt.

Ganz anders wäre die Sachlage bei Parallelschaltung der Barytröhren gewesen. Hierbei mufsten selbstverständlich beide Proben mit gleicher Genauigkeit, bis auf Hundertstel eines Promille Kohlensäure gemesseu werden.

Zur Abfangung des Luftstaubs benutzte ich auch nur anfänglich ein Wattefilter. Ich überzeugte mich bald durch vergleichende Versuche, dafs der Staub quantitativ in den Barytröhren der ersten Reihe zurückgehalten wird. Wo übrigens ausnahmsweise an Stelle der ersten Barytröhren Kalilauge verwendet wurde, war eine gesonderte Abfangung des Luftstaubs, vor dem Eintritt der Luft in die Verbrennungsröhre, und eine Anfeuchtung der Luft vor ihrem Übergang aus der Verbrennungsröhre in die folgende erste Barytröhre in der Regel nicht zu umgehen.

Diejenigen Versuche, bei welchen Kalilauge zur Absorption der primären Kohlensäure diente, sind iu den folgenden Zusammenstellungen besonders kenntlich gemacht.

Wenn ich dazu übergehe, die nach der vorstehend skizzierteu Methode gewonnenen Resultate zu besprechen, so dürfte zweckmäfsig mit der Luft aus dem Freien zu beginnen sein, woran sich die mit Bodenluft angestellten Versuche anschliefsen. Es folgen die Versuche mit Zimmerluft, zunächst ohne und dann mit besonders bewerkstelligter Verunreinigung durch Beleuchtung und sodann auch durch den einfachen Aufenthalt von Menschen im geschlossenen Raum; in ersterer Hinsicht werden die Produkte des auf einem Auerbrenner und einem Schnittbrenner verbrannten Leuchtgases, ferner die Verbrennungsprodukte der Petroleumflamme und von Stearinkerzen untersucht. Den Abschlufs bilden Versuche mit bekannteu Mengen gasförmiger Kohlenwasserstoffe, wie Azetylen, und mit einigen anderen organischen Substanzen, wie Jodoform, Formalinpastillen u. dgl.

I. Luft aus dem Freien.

Die Luft wurde einerseits durch eine Messingröhre, welche durch eine Bohrung im Fensterkreuz ging und anderthalb Meter weit hinausragte, von dem Quecksilberpumpwerk aus dem Freien angesaugt, und anderseits durch das Röhrensystem und die sich

anschliefsende Experimentiergasuhr mit Überdruck weiter befördert.

Luft aus dem Freien.

Alle Versuche ohne Kalilauge.

Nr.	CO_2 im Liter Luft		Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	I	II		
	ccm	ccm		ccm
7	0,329	+ 0,013	390 Liter	0,040 : 1
36	0,300	+ 0,011	275 »	0,037 : 1
50	0,333	+ 0,024	234 »	0,072 : 1
68	0,440	+ 0,025	79 »	0,057 : 1
77	0,351	+ 0,013	120 »	0,037 : 1
78	0,312	+ 0,006	461 »	0,019 : 1
79	0,332	+ 0,012	140 »	0,036 : 1
80	0,346	+ 0,015	82 »	0,043 : 1
Mittel	0,343	+ 0,015	223 Liter	0,044 : 1

Hieraus geht hervor, dafs die Luft im Freien im Mittel **0,015 ‰** verbrennliche gasförmige Kohlenstoffverbindungen enthielt, während die Einzelzahlen zwischen 0,006—0,025 ‰ liegen. In Prozenten des Kohlensäuregehalts der atmosphärischen Luft schwankte der Anteil an unvollkommen oxydierten kohlenstoffhaltigen Gasen zwischen 1,9—7,2 und betrug im Mittel **4,4 %**.

Gautier hatte in Pariser Stadtluft fast zehnmal so hohe Werte für Kohlensäure II, nämlich im Mittel 0,123 ‰ nachgewiesen. Hieraus würde sich, wenn man die (nicht gemessene) Kohlensäure I zu 0,375 ‰ annimmt, **33,0 %** als Anteil der Kohlensäure II berechnen.

Im übrigen erhielt Gautier für die Luft im Freien sehr verschiedene Werte, je nachdem es sich um Stadtluft, Waldluft usw. handelte. Er fand Kohlenstoff aus verbrennlichen organischen Gasen:

In 100 l Luft:

Stadtluft	= 6,80 mg C,	entsprechend	0,123 ‰	CO_2 II
Waldluft	= 3,40 » »	»	0,061	» » »
Bergluft	= 0,66 » »	»	0,012	» » »
Seeluft	= 0,02 » »	»	0,0004	» » »

Hiernach sinkt jedenfalls der Anteil an verbrennlichem Kohlenstoff von Stadtluft zu Waldluft zu Bergluft zu Seeluft ganz beträchtlich. Da jedoch die Messung der Kohlensäure I unterblieb, lassen sich exakte Angaben über die prozentigen Abnahmen bei Gautier nicht machen.

Wollte man, neben 0,375‰ Kohlensäure I für Stadtluft, gleicherweise 0,300‰ in runder Zahl für Wald-, Berg- und Seeluft gelten lassen, so würde man folgende Verhältniszahlen gewinnen:

1. Stadtluft mit 0,375‰ CO_2 I und 0,123‰ CO_2 II.
   CO_2 II : CO_2 I = 0,123 : 0,375 = 0,330 : 1.
   Kohlensäure II = **33,0%** von Kohlensäure I.
2. Waldluft mit 0,300‰ CO_2 I und 0,061‰ CO_2 II.
   CO_2 II : CO_2 I = 0,061 : 0,300 = 0,203 : 1.
   Kohlensäure II = **20,3%** von Kohlensäure I.
3. Bergluft mit 0,300‰ CO_2 I und 0,012‰ CO_2 II.
   CO_2 II : CO_2 I = 0,012 : 0,300 = 0,040 : 1.
   Kohlensäure II = **4,0%** von Kohlensäure I.
4. Seeluft mit 0,300‰ CO_2 I und 0,0004‰ CO_2 II.
   CO_2 II : CO_2 I = 0,0004 : 0,300 = 0,0013 : 1.
   Kohlensäure II = **0,13%** von Kohlensäure I.

Die Pariser Stadtluft bietet ferner nach Gautier im Hinblick auf ihren Gehalt an verbrennlichen Gasen folgende Zusammensetzung:

In 100 l Luft:

19,4 ccm Hydrogène libre aérien,

12,1 ccm Formène,

1,7 ccm C^6H^6 ou vapeurs analogues très carburées,

0,2 ccm GO moyen avec traces d'hydrocarbures en $C^n H^{2n-2}$ et $C^n H^{2n}$.

Danach wären in Pariser Stadtluft nur höchsteus 0,002‰ Kohlenoxyd, dagegen (s. oben) 0,123‰ verbrennliche gasförmige Kohlenstoffverbindungen überhaupt enthalten.

Ein Gehalt von 0,002‰ Kohlenoxyd in der Berliner Stadtluft würde $\frac{1}{7}$—$\frac{1}{8}$ der insgesamt nachgewiesenen verbrennlichen gasförmigen Kohlenstoffverbindungen (0,015‰) bedeuten.

Warum ich in Berlin wesentlich niedrigere Werte als Gautier in Paris erhielt, läfst sich schwer sagen. Vielleicht spielen lokale Verschiedenheiten eine Hauptrolle.

Jedenfalls ist aber durch meine Versuche der positive Nachweis von verbrennlichen gasförmigen Kohlenstoffverbindungen in der freien Aufsenluft einwandfreier sichergestellt als durch Gautier. Denn in meinen Versuchen blieb das letzte Barytwasser diesseits des Verbrennungsofens stets klar und wurde das erste Barytwasser jenseits des Verbrennungsofens stets durch Bildung von kohlensaurem Baryt getrübt.

II. Bodenluft.

Dafs die nachgewiesenen verbrennlichen Kohlenstoffverbindungen der Atmosphäre nicht vorwiegend aus dem Boden herrühren können, zeigen die nachstehenden Versuche, in denen Bodenluft, durch die Verbrennungsröhre geführt, erbeblich weniger Kohlensäure II lieferte. Die Resultate liegen absolut zwischen 0,000—0,006 ‰, und relativ zwischen 0,0—0,3 % des primären Kohlensäuregehalts der Bodenluft. Die Berliner Bodenluft war also geradezu arm an verbrennlichem Kohlenstoff.

Bodenluft.

1. Ohne Kalilauge.

Nr.	CO_2 im Liter Luft		Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	I	II		
	ccm	ccm		ccm
97	2,780	+ 0,000	60 Liter	0,000 : 1
98	2,160	+ 0,006	66 »	0,003 : 1
	2. Mit Kalilauge.			
99	2,400	+ 0,002	950 Liter	0,001 : 1

III. Zimmerluft.

Wie die nachstehende Zusammenstellung erkennen läfst, wurden in verunreinigter Zimmerluft mehr verbrennliche organische Gase als im Freien gefunden. Allerdings war die Mehrung

gegenüber dem Freien eine geringfügige, wenn die Zimmerluft wenig verunreinigt wurde und sich in ihrer Zusammensetzung der Beschaffenheit der freien atmosphärischen Luft näherte. So stieg der Kohlensäuregehalt der Luft in dem grofsen Laboratoriumsraum, in welchem sich nur eine Person aufhielt, bei Abwesenheit anderer Kohlensäurequellen nicht höher als auf etwa 0,4 ‰, als der elektrische Verbrennungsofen in Betrieb gesetzt wurde, und hierbei wurden für Kohlensäure II nur 0,025 ‰ = 6,4 % des primären Kohlensäuregehalts erhalten. Bei Betrieb des Gasverbrennungsofens mit seinem grofsen Gasverbrauch jedoch erreichte der Kohlensäuregehalt der Zimmerluft rund 1 ‰ und es ergab sich für Kohlensäure II im Mittel 0,085 ‰ = 8,2 % des primären Kohlensäuregehalts. Gegenüber dem Freien betrug in letzterem Falle die Mehrung an Kohlensäure II = 0,085 — 0,015 = 0,070 ‰. Diesem Zuwachs von 0,070 ‰ Kohlensäure II entspricht, im Vergleich mit der Zunahme an Kohlensäure I von 1,040 — 0,343 = 0,697 ‰, ein Prozentgehalt von 0,070 : 0,697 = 10,0 % der primären Kohlensäuremehrung.

Auch zwei später erwähnte Versuche, Nr. 89a und 90a, wobei die Zustromluft des Lampenzylinders einer Petroleumlampe und eines Leuchtgas-Auerbrenners untersucht wurde, während für fleifsige Lüftung des überdies sehr grofsen Zimmers gesorgt war, können als Versuche in reiner Zimmerluft rechnen. Hier erhielt ich sogar noch niedrigere Werte als 0,025 ‰ = 6,4 %, nämlich nur 0,012 bzw. 0,011 ‰ als Zuwachs zu 0,600 ‰, entsprechend 2,0 bzw. 1,8 % des primären Kohlensäuregehalts.

Während letzterer Versuche dürfte der Gehalt der freien Atmosphäre an organischen Gasen abnorm niedrig gewesen sein. Oben war für die freie Aufsenluft 0,006—0,025 ‰, im Mittel 0,015 ‰ nachgewiesen worden, entsprechend 1,9—7,2 % des primären Kohlensäuregehalts.

Reine Zimmerluft enthält also unter Umständen keine erheblich gröfsere Menge von verbrennlichen gasförmigen Kohlenstoffverbindungen als die freie Aufsenluft.

Zimmerluft.

Alle Versuche ohne Kalilauge.

1. Zimmerluft, aus Kasten entnommen, während der elektrische Verbrennungsofen im Betrieb war.

Nr.	CO_2 im Liter Luft		Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	I	II		
	ccm	ccm		ccm
38	0,392	+ 0,025	390 Liter	0,064 : 1

2. Zimmerluft, aus Kasten entnommen, während der Gasverbrennungsofen im Betrieb war.

13	1,057	+ 0,080	260 Liter	0,076 : 1
19	1,074	+ 0,074	260 »	0,069 : 1
30	0,997	+ 0,076	300 »	0,076 : 1
31	0,996	+ 0,080	200 »	0,080 : 1
35	1,073	+ 0,113	220 »	0,105 : 1
Mittel	1,040	+ 0,085	248 Liter	0,082 : 1

Nach Versuch Nr. 13 wurde komprimierte CO_2 aus Stahlzylinder in den Kasten, der geschlossen blieb, eingeführt und ein ebensolcher Versuch (Nr. 14) vorgenommen. Die eingeleitete CO_2 bewirkte keine wesentliche Änderung im Resultat:

13	1,057	+ 0,080	260 Liter	0,076 : 1
14	5,387	+ 0,064	100 »	—

IV. Beleuchtung.

a) Leuchtgas, Auerbrenner.

Bereits in der zweiten Gruppe der vorstehend mitgeteilten Versuche war die Zimmerluft durch die Produkte der Leuchtgasverbrennung des Verbrennungsofens verunreinigt, und es stand daher wohl zu erwarten, dafs in besonders auf die Gasbeleuchtung gerichteten Versuchen sich ähnliche Resultate wie bei jenen Zimmerluftversuchen ergeben würden.

In den folgenden Versuchen wurde zunächst im Respirationskasten auf einem Auerbrenner Leuchtgas verbrannt, alsdann der Brenner herausgenommen, die Kastentür wieder geschlossen und

dem Kasten Luft zwecks Analyse entnommen. Die Resultate dieser Versuchsreihe (unten sub 1) waren in der Tat von jenen Resultaten für Zimmerluft kaum verschieden, verhältnismäfsig wenigstens, wie die folgenden Zahlen erkennen lassen.

Leuchtgas, Auerbrenner.

Kohlensäure I = 1,552 ‰ . . . . (oben 1,040)
Kohlensäure II = 0,115 ‰ = 8,1 % von I . . (» 8,2 %).

Plus gegen das Freie.

Kohlensäure I = 1,552 — 0,343 = 1,209 ‰ . . (oben 0,697)
Kohlensäure II = 0,115 — 0,015 = 0,100 ‰ . . (» 0,070)
Kohlensäure II = 0,100 : 1,209 = 8,3 % von Plus I (» 10,0 %).

Wurden jedoch sehr hohe Kohlensäuregehalte im Kasten hergestellt und daher vor die Barytröhren Kaliumhydrat in Stücken eingeschaltet, so ergaben sich für Kohlensäure II erheblich geringere Mengen, nämlich bei etwa 10 ‰ Kohlensäure I nur etwa 0,02 ‰ Kohlensäure II, d. i. 0,2 % von I. Es hat daher den Anschein, als ob die betreffenden kohleustoffhaltigen Gase von der Kalilauge zum grofsen Teil zurückgehalten wurden.

Ebensowenig Kohlensäure II, nämlich gleichfalls nur ungefähr 0,020 ‰, war sogar bei unmittelbarer Luftentnahme aus dem Lampenzylinder nachzuweisen, obwohl hier der Kohlensäuregehalt I bis mehr als 80 ‰ betrug. Die Versuchsbedingungen waren aber hier insofern andere, als der Auerbrenner im grofsen Laboratoriumsraum stand und dessen Luft kaum verunreinigte. Die unten in den Zylinder einströmende Luft war hier also rein, bei den Kastenversuchen aber bereits verunreinigt, und man kann die Vermutung nicht von der Hand weisen, dafs eine vollkommenere Verbrennung statthatte und eben durch die Zufuhr reinerer Luft veranlafst war. Eine Absorption durch die Kalilauge, deren Anwendung bei so hohen Kohlensäuregehalten nicht zu umgehen war, mag hier ebenfalls stattgefunden haben.

Im Versuch Nr. 90 wurde übrigens nebenher die Kohlensäure II auch für die Zustromluft bestimmt. Der Zustrom ergab 0,011 und der Abstrom 0,020 ‰.

In den Erismannschen Versuchen mit Verbrennung von Leuchtgas, allerdings auf dem Schnittbrenner, hatte das Verhältnis von Kohlensäure II : Kohlensäure I zwischen

0,130 : 1 bis 0,228 : 1

geschwankt und somit im Mittel etwa 0,180 : 1 betragen; die Kohlensäure II war im Mittel also zu 18,0% von I, demnach erheblich höher als von mir gefunden worden.

Beleuchtung.

a) Leuchtgas, Auerbrenner. Luftentnahme aus Kasten.

1. Ohne Kalilauge.

Nr.	CO_2 im Liter Luft I	CO_2 im Liter Luft II	Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	ccm	ccm		ccm
21	4,400	+ 0,064	100 Liter	0,015 : 1
27	4,477	+ 0,068	120 »	0,015 : 1
41	1,917	+ 0,053	152 »	0,028 : 1
42	1,772	+ 0,056	136 »	0,032 : 1
43	1,588	+ 0,062	130 »	0,039 : 1
44	1,527	+ 0,187	130 »	0,122 : 1
45	1,308	+ 0,192	120 »	0,147 : 1
46	1,200	+ 0,140	172 »	0,117 : 1
Mittel	1,552	+ 0,115	140 Liter	0,081 : 1
		2. Mit Kalilauge.		
102	11,600	+ 0,015	54 Liter	0,0013 : 1
103	10,000	+ 0,021	96 »	0,0021 : 1
Mittel	10,800	+ 0,018	75 Liter	0,0017 : 1

Die Versuche Nr. 21 und 27 sind mit Gasverbrennungsofen ausgeführt, die übrigen, auch die nachstehenden, mit elektrischer Verbrennungsröhre.

Beleuchtung.

a) Leuchtgas, Auerbrenner. Luftentnahme aus Zylinder.

Versuche ausnahmslos unter Anwendung von Kalilauge.

73	14,000	+ 0,024	164 Liter	0,0017 : 1
72	49,600	+ 0,021	4 »	0,0004 : 1
90	82,000	+ 0,020	657 »	0,0003 : 1

Im letzten Versuch, Nr. 90, ergab sich für Zustromluft zum Zylinder:

90a	0,600	+ 0,011	657 Liter	0,018 : 1

b) Petroleumlampen.

Die Versuche mit Petroleumlampen führten auf ganz ähnliche Resultate wie jene mit dem Auerbrenner, sofern nur ein »Schwitzen« der Lampe nach Möglichkeit vermieden wurde. Anfänglich war auf diesen Punkt nicht besonders geachtet worden, weshalb die ersten Resultate zu hoch ausfielen. Denn aus den unten angeführten Versuchen geht hervor, dafs bereits freiwillige Petroleumverdunstung, aus zwei im Kasten aufgestellten Glasschalen von je etwa 20 cm Durchmesser, eine beträchtliche Menge von Kohlensäure II, etwa $0{,}165 - 0{,}015 = 0{,}150\,^0/_{00}$ lieferte, d. i. fast so viel, als mit $5 - 10\,^0/_{00}$ Kohlensäure I aus Petroleumverbrennung auf (schwitzender) Lampe vergesellschaftet war. Dafs hierbei mit dem niedrigeren primären der höhere sekundäre Kohlensäuregehalt einherging, dürfte seinen Grund in einem zufälligen stärkeren »Schwitzen« der Lampe haben können.

Die Menge des in der Verbrennungsröhre oxydierten Kohlenstoffs fiel sofort beträchtlich, als, von Versuch Nr. 16 ab, auf diesen Umstand besonders das Augenmerk gerichtet und das »Schwitzen« tunlichst beseitigt wurde.

Beleuchtung.

b) Petroleum. Luftentnahme aus Kasten.

1. Ohne Kalilauge.

Nr.	CO_2 im Liter Luft I	CO_2 im Liter Luft II	Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	ccm	ccm		ccm
16	5,995	+ 0,096	70 Liter	0,016 : 1
17	5,328	+ 0,092	105 »	0,017 : 1
18	4,587	+ 0,095	135 »	0,021 : 1
Mittel	5,303	+ 0,094	103 Liter	0,018 : 1

Die vorstehenden Versuche sind mit Gasverbrennungsröhre, die nachstehenden mit elektrischer Verbrennungsröhre ausgeführt.

39	2,512	+ 0,100	207 Liter	0,040 . 1
40	2,007	+ 0,051	142 »	0,025 : 1
Mittel	2,260	+ 0,075	175 Liter	0,033 : 1
69	12,000	+ 0,071	28 Liter	0,006 : 1

2. Mit Kalilauge. Elektrische Verbrennungsröhre.

Nr.	CO_2 im Liter Luft		Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	I	II		
	ccm	ccm		ccm
71	12,000	+ 0,029	48 Liter	0,0024 : 1
70	10,000	+ 0,029	345 »	0,0029 : 1
105	8,400	+ 0,010	156 »	0,0012 : 1

Beleuchtung.

b) Petroleum. Luftentnahme aus Zylinder.

Versuche ausnahmslos unter Anwendung von Kalilauge.

74	73,200	+ 0,033	48 Liter	0,00045 : 1
75	63,200	+ 0,059	130 »	0,00093 : 1
89	65,000	+ 0,040	420 »	0,00062 : 1

Im letzten Versuch, Nr. 89, ergab sich für Zustromluft zum Zylinder

89a	0,600	+ 0,012	372 Liter	0,020 : 1

Ferner ergab sich in Nr. 89 für Kondenswasser:

89	65,000	+ 0,007	—	0,00011 : 1

Hieraus würde sich um 0,007, eine geringfügige Korrektur, obiges Resultat von 0,040 erhöhen.

Beleuchtung.

b) Petroleum. Luftentnahme aus Kasten.

Einflufs des »Schwitzens« der Lampe. Versuche ausnahmslos ohne Kalilauge.

1. Nur Verdunstung von Petroleum aus zwei Schalen.

15	0,400	+ 0,165	90 Liter	0,412 : 1

2. Verbrennung von Petroleum, Schwitzen der Lampe jedoch nicht besonders ausgeschlossen.

2	11,000	+ 0,150	15 Liter	0,014 : 1
3	10,000	+ 0,190	10 »	0,019 : 1
Mittel	10,500	+ 0,170	12,5 Liter	0,017 : 1
8	5,207	+ 0,189	60 Liter	0,036 : 1
9	4,609	+ 0,190	80 »	0,041 : 1
10	3,998	+ 0,226	70 »	0,052 : 1
Mittel	4,605	+ 0,202	70 Liter	0,043 : 1

3. Verbrennung von Petroleum, und dabei Schwitzen der Lampe nach Möglichkeit verhütet.

Nr.	CO_2 im Liter Luft		Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	I	II		
	ccm	ccm		ccm
16—18	5,303	+ 0,094	103 Liter	0,018 : 1
39—40	2,260	+ 0,075	175 »	0,033 : 1
69	12,000	+ 0,071	28 »	0,006 : 1

c) **Vergleich verschiedener Lichtquellen.**

Vergleicht man verschiedene Lichtquellen unter möglichst gleichmäfsigen Versuchsbedingungen, so zeigt sich eine auffallende Übereinstimmung in der Lieferung von unvollkommen verbrannten Kohlenstoffverbindungen. Letztere machten in den folgenden Versuchen für die Beleuchtung mittels Stearinkerzen 1,3% des Kohlensäuregehaltes aus; für Leuchtgas, einerlei ob Auer- oder Schnittbrenner, 1,5% und für Petroleumbeleuchtung 1,8%.

Erismann hatte etwa zehnmal höhere Werte gefunden. Nach seinen Versuchen schwankt das Verhältnis von Kohlensäure II : Kohlensäure I bei Beleuchtung zwischen 0,027 : 1 bis 0,228 : 1:

Schnittbrenner, II : I = 0,130 : 1 bis 0,228 : 1, Mittel 0,180 : 1
Petroleum, II : I = 0,051 : 1 » 0,093 : 1, » 0,072 : 1
Stearinkerzen, II : I = 0,027 : 1 » 0,213 : 1, » 0,120 : 1,

wonach somit im Mittel die CO_2 II für Stearinkerzen 12,0%, für Leuchtgas 18,0% und für Petroleum 7,2% von CO_2 I betrug.

Erismann zieht aus seinen Versuchen den Schlufs, dafs eine Petroleumlampe die Luft weniger mit unvollkommen oxydierten organischen Gasen als ein Leuchtgas-Schnittbrenner verunreinige. Nach dem Ausfall meiner Versuche bestünde eher ein umgekehrtes Verhältnis, wenn man auf die kleinen Unterschiede Gewicht legen wollte. Für die Praxis des täglichen Lebens kann man sogar mit Sicherheit sagen, die Luftverunreinigung durch Kohlensäure II ist bei Petroleum gröfser als bei Leuchtgas, weil zweifellos auf ein gründliches Abreiben der Lampen und auf eine Beseitigung auch der kleinsten anhaftenden

Ölspuren gar nicht geachtet wird. Besonders an den sog. Petroleumöfen tritt der Petroleumgeruch bisweilen in penetrantester Weise auf.

Beleuchtung.

c) Verschiedene Lichtquellen. Alle Versuche ohne Kalilauge. Luftentnahme aus Kasten, während der Gasverbrennungsofen im Betrieb war.

Nr.	CO_2 im Liter Luft I	CO_2 im Liter Luft II	Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	ccm	ccm		ccm
1. Leuchtgas, Auerbrenner.				
21	4,400	+ 0,064	100 Liter	0,015 : 1
2. Leuchtgas, Schnittbrenner.				
20	4,376	+ 0,064	100 Liter	0,015 : 1
28	4,520	+ 0,066	120 »	0,015 : 1
Mittel	4,448	+ 0,065	110 Liter	0,015 : 1
3. Stearinkerzen.				
22	5,828	+ 0,062	116 Liter	0,011 : 1
23	4,440	+ 0,069	120 »	0,016 : 1
Mittel	5,134	+ 0,066	118 Liter	0,013 : 1
4. Petroleumlampe.				
16—18	5,303	+ 0,094	103 Liter	0,018 : 1

V. Atmung.

In Zimmerluft hatte ich bei Betrieb des Gasverbrennungsofens 0,085 ‰ unvollkommen oxydierte organische Gase bekommen, für 1,040 ‰ Kohlensäure. Kamen hierzu 4,145 — 1,040 = 3,105 ‰ Kohlensäure aus Atmung, so stieg ersterer Wert von 0,085 auf 0,105, also um 0,020. Es würden somit 3,105 ‰ Atmungskohlensäure 0,020 ‰ verbrennlicher organischer Ausatmungsgase entsprechen, oder in Prozenten gerechnet würden letztere 0,020 : 3,105 = 0,64 % ausmachen.

Wahrscheinlich waren demnach in der Ausatmungsluft, im weitesten Sinne, verbrennliche gasförmige Kohlenstoffverbindungen vorhanden.

Einwandfreier sind die Versuche mit dem elektrischen Verbrennungsofen.

Mit 10,445 ‰ Kohlensäure waren 0,043 ‰ verbrennliche organische Gase vergesellschaftet. Die ursprüngliche Zimmerluft hatte neben (0,400 + 0,600 + 0,600) : 3 = 0,533 ‰ Kohlensäure, (0,025 + 0,012 + 0,011) : 3 = 0,016 ‰ verbrennliche organische Gase enthalten. Auf die Atmung treffen somit 10,445 — 0,533 = 9,892 ‰ Kohlensäure, und nebenher traten auf 0,043 — 0,016 = 0,027 ‰ verbrennliche organische Gase, deren Verhältnis zur produzierten Kohlensäure also 0,027 : 9,892 = 0,27 % beträgt.

Hiernach steht zum mindesten soviel sicher, dafs der Luft eines geschlossenen Raumes, infolge des Aufenthaltes von Personen darin, aufser der Kohlensäure noch andere Kohlenstoffverbindungen gasförmigen Zustandes übermittelt werden.

Möglicherweise handelte es sich um ausgeatmete Kohlenwasserstoffe, welche vom Darm aus resorbiert waren.

Mag diese Vermutung zutreffen oder nicht — auf jeden Fall darf angenommen werden, dafs die nachgewiesenen organischen Stoffe, die aus der Beleuchtung und dem Aufenthalt von Menschen im geschlossenen Raum herrührten, in einem ursächlichen Zusammenhang mit jener Depression der Kohlensäureausscheidung und der Atmungsgröfse stehen, welche ich zu 3—5 % für je 1 ‰ Kohlensäure bei Luftverschlechterung aus Beleuchtung und Atmung, nicht aber bei reiner Kohlensäureanreicherung nachweisen konnte.[1])

Atmung.

Luftentnahme aus Kasten, worin sich Personen eine Zeitlang aufgehalten hatten.

1. Gasverbrennungsofen im Betrieb.

Vor Versuch Nr. 11—12 halte ich mich 2 Stunden im Kasten auf. Versuche ohne Kalilauge.

Nr.	CO_2 im Liter Luft		Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	I	II		
	ccm	ccm		ccm
11	4,621	+ 0,120	80 Liter	0,026 : 1
12	3,669	+ 0,089	162 »	0,024 : 1
Mittel	4,145	+ 0,105	121 Liter	0,025 : 1

1) Dieses Archiv, Bd. 47, S. 1 u. 26.

2. Elektrischer Verbrennungsofen im Betrieb.

Zwei jüngere Personen (Mechanikerlehrlinge) halten sich vor Versuch Nr. 63 etwa 1¼ Stunde, und vor Versuch Nr. 65—67 etwa 2 Stunden im Kasten auf, vor Versuch Nr. 94 etwa 2½ Stunden, vor 106 etwa 2 Stunden.

a) Versuche ohne Kalilauge.

Nr.	CO_2 im Liter Luft		Untersuchte Luftmenge	Auf 1 ccm CO_2 I treffen n ccm CO_2 II
	I	II		
	ccm	ccm		ccm
65	10,944	+ 0,048	50 Liter	0,0044 : 1
66	9,945	+ 0,038	42 »	0,0038 : 1
Mittel	10,445	+ 0,043	46 Liter	0,0041 : 1
b) Versuche mit Kalilauge.				
63	5,307	+ 0,018	341 Liter	0,0034 : 1
67	8,945	+ 0,031	32 »	0,0035 : 1
94	12,000	+ 0,016	433 »	0,0013 : 1
106	8,800	+ 0,016	128 »	0,0018 : 1
Mittel	8,763	+ 0,020	234 Liter	0,0023 : 1

In Nr. 94 wurde für Kondenswasser, welches durch Abkühlung von 433 l Luft auf —15° erhalten wurde, eine Korrektur von +0,001 ermittelt, welche also zu +0,016 hinzukämen.

VI. Versuche mit Azetylen und Alkohol. Methodisches.

Es lag nahe, zu Kontrollzwecken der zu untersuchenden Luft ein organisches Gas, welches künstlich entwickelt wurde, beizumengen. Als ein solches Gas schien besonders das Azetylen geeignet.

Um eine reichliche Ansammlung von diesem Gas in einem geschlossenen Behälter zu bekommen, warf ich 25 g Kalziumkarbid im Kasten in Wasser, wobei die Kastentür nur kurz geöffnet und wieder geschlossen wurde. Die Kastenluft enthielt vom vorausgegangenen Versuch her bereits 2,116‰ Kohlensäure, welche in den Barytröhren diesseits der Verbrennungsröhre blieben. Für jenseits der Verbrennungsröhre aber war nochmals reichlich 1‰ Kohlensäure, aus den 25 g Kalziumkarbid auf 7 cbm Luft, zu erwarten. In der Tat erhielt ich an drei aufeinanderfolgenden Tagen, während welcher Zeit der Kasten nach der einmal erfolgten Azetylenentwicklung geschlossen blieb (Versuch

Nr. 54—56), für Kohlensäure II die Werte 1,946 und 1,729 und 1,517, im Mittel 1,731 ‰. Da im vorausgegangenen Versuch 0,137 ‰ Kohlensäure II nachgewiesen waren, die gleiche Luft sich aber auch in diesen Versuchen im Kasten befand, so treffen auf Azetylen nur 1,731 — 0,137 = 1,594 ‰.

Als ich diese Versuche nach einigen Monaten wiederholte, ging ich von reinerer Kastenluft, welche nur 0,605 ‰ Kohlensäure und daneben 0,015 ‰ verbrennliche kohlenstoffhaltige Gase enthielt, aus. Das Kalziumkarbid wurde von dem gleichen Vorrat wie früher genommen, war aber erheblich mehr verwittert; die Versuchsbedingungen blieben im übrigen genau die gleichen. Es war vorauszusehen, dafs sich weniger Azetylen ansammeln, und die Zahl für Kohlensäure II sich somit niedriger als oben stellen würde.

Am ersten Versuchstag der zweiten Reihe (Nr. 85) erhielt ich 0,651 und am zweiten (Nr. 86) 0,621, im Mittel also 0,636 ‰ Kohlensäure II, wovon 0,636 — 0,015 = 0,621 ‰ auf Azetylen treffen.

In der nachstehenden Figur sind die Resultate von Versuch Nr. 85 bildlich veranschaulicht. Man erkennt, dafs es sich doch um verhältnismäfsig sehr grofse Mengen des verbrennlichen Gases handelt, welches die Barytröhren I—IV durchstreicht, um in der folgenden Verbrennungsröhre oxydiert und in den Barytröhren V bis VIII, so gut wie vollständig schon in V als Kohlensäure absorbiert zu werden. Beispielsweise betrug in Versuch Nr. 85 die durchgeleitete Luftmenge etwa 43 l. Die Titerverminderung von 30 (aus 240) ccm Barytwasser betrug:

6,2	ccm in Röhre	I	= 0,577 ‰	Kohlensäure,
0,2	» » »	II	= 0,019 ‰	»
0,1	» » »	III	= 0,009 ‰	»
0,0	» » »	IV	= 0,000 ‰	»
6,5	ccm in	I—IV	= 0,605 ‰	Kohlensäure.
6,9	ccm in Röhre	V	= 0,642 ‰	Kohlensäure,
0,1	» » »	VI	= 0,009 ‰	»
0,0	» » »	VII	= 0,000 ‰	»
0,0	» » »	VIII	= 0,000 ‰	»
7,0	ccm in	V—VIII	= 0,651 ‰	Kohlensäure.

Azetylen wurde also in den Barytröhren der ersten Reihe wenig absorbiert. Bei anderen organischen Gasen uud Dämpfen wäre die Absorption beträchtlicher gewesen.

So werden Alkoholdämpfe bekanntlich von Wasser gut absorbiert. Als ich daher 10 ccm absoluten **Alkohols** im Respirationskasten, welcher bereits 1,979 ‰ fertige und 0,050 unfertige Kohlensäure enthielt, verdunsten liefs, stieg die Kohlensäure II nur auf 0,075, also um 0,025, während sie bei fehlender Absorption auf ungefähr 1,000 hätte kommen müssen.

Aus dieser Verschiedenheit des Verhaltens von Azetylen und des Alkohols läfst sich schliefsen, dafs wahrscheinlich auch in den obigen Versuchen manche Stoffe vom Barytwasser abgefangen wurden.

Azetylen. Versuch 85.

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
0,577	0,019	0,009	0,000	0,642	0,009	0,000	0,000

0,605 ‰ CO_2 + 0,651 ‰

Um hierüber für einige Fälle Gewifsheit zu erhalten, brachte ich schliefslich einen Teil des **Barytwassers, welches im Versuch zur ersten Absorption der Kohlensäure I gedient hatte, zur Verdunstung** mittels CO_2-freier und von ihrem verbrennlichen Kohlenstoff durch eine Verbrennungsröhre befreiter Luft; diese Luft durchströmte, nach dem Durchgang durch das zur Trockne, jedoch bei gewöhnlicher Lufttemperatur einzudampfende Barytwasser, zwecks Oxydation eine zweite Verbrennungsröhre und zwecks Absorption der etwa gebildeten Kohlensäure wiederum ein System von Barytröhren (B).

Solcher Versuche, welche aufserordentlich zeitraubend waren, wurden vier ausgeführt, je einer für Bodenluft, durch Auerbrenner und Petroleumlampe verunreinigte Luft, und für Ausatmungsluft.

1. Bodenluft. Versuch 99.

a) Luft 2,400 ‰ CO_2 I. Aus 0,4 Tit.-Diff. 0,002 ‰ = 0,1 % CO_2 II
b) Barytwasser verdunstet. » 0,3 » 0,014 » = 0,6 » » »
Ad a) wurden durchgeleitet 950 l Luft in 10 Tagen,
» b) » verdampft 24 von 240 ccm Barytwasser in 16 Tagen durch 1140 l Luft.

In einem sich anschliefsenden *Kontrollversuch* wurden während weiterer 19 Tage nochmals 24 ccm, jedoch unverändertes Barytwasser, aus der Vorratsflasche entnommen, zur Trockne eingedampft durch ebenfalls etwa 1000 l Luft, ohne dafs eine Verminderung des Titers des Barytwassers B eintrat.[1] Die 0.3 ccm Titerdifferenz für 30 von 240 ccm Barytwasser B dürften daher oben auf Rechnung der Bodenluft gesetzt werden müssen.

Immerhin ist 0,3 ccm Titerdifferenz doch so wenig, dafs es gewagt sein dürfte, die hieraus berechnete Menge von Kohlensäure II, 0,014 ‰, einfach zu der aus der Luft unmittelbar erhaltenen Menge, 0,002 ‰, hinzuzuzählen, um hieraus einigermafsen genau die Gesamtmenge der in der Bodenluft vorhandenen verbrennlichen gasförmigen Kohlenstoffverbindungen zu bekommen. Es läfst sich vielmehr nur so viel mit einiger Sicherheit folgern: *Dafs ein Teil dieser Gase bereits vom Barytwasser der ersten Reihe absorbiert wurde.* Ich verzichte daher auch darauf, das hier erhaltene Resultat zur Grundlage einer an den übrigen Versuchen, bei welchen das Barytwasser nicht verdampft wurde, entsprechend anzubringenden *Korrektur* zu machen. Die Versuche dürften auch bei der ursprünglichen Art ihrer Durchführung *unter sich vergleichbar* sein und *sichere Minimalwerte* bieten.

Gleiches gilt für die folgenden drei Versuche.

In einer gröfseren Anzahl von Versuchen, Barytwasser zur Verdampfung zu bringen und, zum Zwecke einer gröfseren Sicherheit der Barytwasserkorrektur, gröfsere Mengen zu verdampfen als geschehen, schien mir keinen, mit dem erhöhten Zeitaufwand in Einklang zu setzenden Erfolg zu versprechen. Die Versuche hätten in solchem Falle voraussichtlich *noch* mehrere *Jahre* in Anspruch genommen, und sie hatten ohnedem bereits zwei Jahre gewährt.

2. Auerbrenner, Kastenluft. Versuch 103.

a) Luft 10,000 ‰ CO_2 I. Aus 0,5 Tit.-Diff. 0,021 ‰ = 0,2 ‰ CO_2 II
b) Barytwasser verdunstet. » 0,5 » 0,250 » = 2,5 » » »
Ad a) wurden durchgeleitet 96 l Luft,
» b) » verdampft 20 von 240 ccm Barytwasser.

1) Versuch Nr. 99 hatte somit 10 + 16 + 19 = 45 Tage gedauert.

3. Petroleumlampe, Kastenluft. Versuch 105.

a) Luft 8,400 ‰ CO_2 I. Aus 0,4 Tit.-Diff. 0,010 ‰ = 0,1 % CO_2 II
b) Barytwasser verdunstet. » 0,4 » 0,123 » = 1,5 » » »
Ad a) wurden durchgeleitet 156 l Luft.
» b) » verdampft 20 von 240 ccm Barytwasser.

4. Atmung, Kastenluft. Versuch 106.

a) Luft 8,800 ‰ CO_2 I. Aus 0,5 Tit.-Diff. 0,016 ‰ = 0,2 % CO_2 II
b) Barytwasser verdunstet. » 0,2 » 0,188 » = 2,1 » » »
Ad a) wurden durchgeleitet 128 l Luft,
» b) » verdampft 8 von 240 ccm Barytwasser.

Auch für Kondenswasser aus Beleuchtung und Atmung liefs sich der Nachweis des Einschlusses geringster Mengen gasförmiger Kohlenstoffverbindungen mit Sicherheit führen.

1. Petroleumlampe, Zylinderluft. Versuch 89.

a) Luft 65,000 ‰ CO_2 I. Aus 4,2 Tit.-Diff. 0,040 ‰ = 0,06 % CO_2 II
b) Kondenswasser verdunstet. » 0,7 » 0,007 » = 0,01 » » »
Ad a) wurden durchgeleitet 418 l Luft,
» b) » verdampft 17 ccm Kondenswasser, welche sich aus den 418 l dem Lampenzylinder entnommener Luft bei Abkühlung auf die Zimmertemperatur niedergeschlagen hatten.

2. Atmung, Kastenluft. Versuch 94.

a) Luft 12,000 ‰ CO_2 I. Aus 1,7 Tit.-Diff. 0,016 ‰ = 0,13 % CO_2 II
b) Kondenswasser verdunstet. » 0,1 » 0,001 » = 0,01 » » »
Ad a) wurden durchgeleitet 433 l Luft,
» b) » verdampft: Das Kondenswasser, welches sich aus 433 l Kastenluft bei Abkühlung mittels einer Eis-Kochsalz-Mischung niedergeschlagen hatte.

VII. Verschiedene andere organische Substanzen.

Zum Schlufs machte ich eine Anwendung von der beschriebenen Methode, indem ich Luft über verschiedene organische Substanzen, als Dustlefsöl, Jodoform, Formalinpastillen, Chloroform hinwegstreichen liefs. Diese Luft wurde von ihrer Kohlensäure befreit und nebenher auf ihren Gehalt an verbrennlichen organischen Gasen untersucht. Die vorliegenden, der Untersuchung dienenden organischen Substanzen waren in doppelhalsigen Wulfschen Flaschen untergebracht, durch welche die

Luft, welche eine Temperatur von 18—21° und eine relative Feuchtigkeit von 50—60% aufwies, angesaugt wurde. Eine etwaige Mehrung an Kohlensäure II, d. i. verbrannten gasförmigen Kohlenstoffverbindungen, mufste auf eine Abgabe von seiten der zu prüfenden Substanz zurückzuführen sein.

Aus den Wulfschen Flaschen gelangte die Luft in das Quecksilberpumpwerk, von wo aus sie durch Barytwasser, die Verbrennungsröhre und nochmals durch Barytwasser weitergeprefst wurde. Vor und hinter der Verbrenuungsröhre waren T-Stücke eingeschaltet, mit Hilfe deren ich mich überzeugen konnte, dafs die in die Verbrennungsröhre eintretende Luft, sofern es sich um Versuche mit Substanzen wie Jodoform oder Formalinpastillen handelte, in der erwarteten Weise sehr stark nach Jodoform usw. roch, während die austretende Luft stets vollkommen geruchfrei war. Folgende Mehrungen wurden für die genannten Substanzen nachgewiesen:

1. Dustlefsöl . . . . . + 0,000‰ CO_2 II; 250 l Luft untersucht. Von seiten des Dustlefsöls fand also überhaupt keine mefsbare Abgabe statt.
2. Jodoform . . . . . + 0,005‰ CO_2 II; 154 l Luft untersucht. Das ist eine überraschend geringe Abgabe, in Anbetracht des intensiven Geruchs des Jodoforms. Hatte doch die Luft aus dem Freien (s. unter I oben) im Mittel dreimal so viel gasförmige verbrennliche Kohlenstoffverbindungen ergeben!
3. Formalinpastillen . . . . . + 0,600‰ CO_2 II; 64 l Luft untersucht. Die Formalinpastillen zeigen demnach verhältnismäfsig eine, vielleicht über Erwarten hohe Abgabe. Desgleichen in noch viel höherem Mafse das Chloroform.
4. Chloroform . . . . . + 80,000‰ CO_2 II; 1 l Luft untersucht.

Man könnte daran denken, statt der von mir in diesen letzten Versuchen gewählten doppelten Versuchsanordnung[1]) zu folgen,

[1]) Einerseits Pumpwerk—Barytröhren—Verbrennungsröhre—Barytröhren, und anderseits Wulfsche Flasche—Pumpwerk—Barytröhren—Verbrennungsröhre—Barytröhren.

die Messung scheinbar einfacher in einem Gange zu erledigen, indem man die Luft vor ihrem Eintritt in die Wulf'sche Flasche von ihrer Kohlensäure und ihrem verbrennlichen Kohlenstoff reinigte, so dafs der ganze, jenseits der Wulfschen Flasche auftretende Kohlenstoff ohne weitere Rechnung die Abgabe der zu prüfenden Substanz bedeuten würde. Doch wäre in solchem Falle die Reinigung in unwillkommener Weise mit einer erheblichen Änderung des Feuchtigkeitszustandes der in die Wulfsche Flasche eintretenden Luft verbunden, aus welchem Grunde ich davon abstand, die Versuche in dieser Weise auszuführen.

Im wesentlichen dürften folgende **Schlufssätze** das Resultat der vorstehend mitgeteilten Untersuchungen umfassen:

1. In der freien Aufsenluft existieren sicher unvollkommen oxydierte gasförmige Kohlenstoffverbindungen. Die Menge dieser Stoffe beträgt in Berlin mindestens etwa 0,015 Volumpromille der Luft im Durchschnitt, das ist etwa $4^1/_2$% vom Kohlensäuregehalt der Luft.
2. Reine Zimmerluft enthält ebensoviel von diesen Stoffen wie die freie Aufsenluft. Wird die Zimmerluft jedoch verunreinigt, sei es durch Beleuchtungseinrichtungen, welche Kohlensäure produzieren, sei es durch den Aufenthalt von Menschen im Zimmer, so steigt auch der Gehalt der Zimmerluft an unvollkommen oxydierten gasförmigen Kohlenstoffverbindungen.

Über die Keimdichte der normalen Schleimhaut des Intestinaltraktus.

Von

Prof. **M. Ficker.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Die Frage der Bakteriendurchlässigkeit der normalen Darmschleimhaut ist trotz zahlreicher und darunter sehr sorgfältiger Arbeiten noch nicht zur Ruhe gekommen. Sie wird durch die herrschende Ansicht bekanntlich im negierenden Sinne beantwortet. Man kann aber nicht sagen, dafs es die blofse Lust am Opponieren ist, die immer wieder an der bestehenden Meinung rüttelt, sondern es dürften die immer wiederkehrenden Angriffe auf diese Lehre zum guten Teile ein Ausdruck dafür sein, dafs unsere Kenntnisse über die Entstehung von Darminfektionen überhaupt recht unzulänglich sind. Auch wenn das Dogma der physiologischen Undurchlässigkeit zu Recht besteht, so sind doch damit viele Rätsel, welche die intestinalen Infektionen in sich schliefsen, einer befriedigenden Lösung noch nicht näher gebracht.

Wie in den technischen Bemerkungen ausgeführt ist, haben wir jetzt an die Methodik der Untersuchung von Blut und Organen auf Bakterien andere Anforderungen zu stellen wie früher. Es erschien mir einmal aus diesem Grunde wünschenswert, die Lehre der Keimdichte der normalen Darmwand einer Nachprüfung zu unterziehen, zum anderen aber mufste es nach den bekannten

Ausführungen v. Behrings[1]) über Tuberkuloseentstehung geboten erscheinen, diese Versuche namentlich auch auf junge Individuen auszudehnen.

Die Literatur über den vorliegenden Gegenstand ist in einem 95 Arbeiten umfassenden Referate Schotts[2]) sowie in den jüngst erschienenen Abhandlungen von B. Klimenko[3]) und A. Wrzosek[4]) so ausführlich behandelt, dafs sie hier im Zusammenhange nicht berücksichtigt werden soll.

I. Technische Bemerkungen.

Methodik ist in der Bakteriologie alles. An die Richtigkeit dieses Satzes wird man erinnert, wenn man die heutigen Resultate der Blutuntersuchungen bei Typhuskranken vergleicht mit denen, wie sie vor wenigen Jahren erhalten wurden. Noch im Jahre 1898 mufste u. a. Heim schreiben: ».... so gut wie ungeeignet für die Diagnose sind Aussaaten vom Blut der Kranken, denn die Typhuskeime werden nur selten im Kreislauf angetroffen.« Heute wissen wir, dafs beim Typhuskranken nirgends zuverlässiger die spezifischen Erreger zu finden sind als gerade im Blute. Den Umschwung in den Untersuchungsergebnissen verdanken wir der Einsicht, dafs man nicht einige wenige Ösen oder Tropfen Blutes, sondern mehrere Kubikzentimeter zur Aussaat auf Nährböden verwenden müsse, sowie dafs Kulturmedien nach Eingabe relativ grofser Mengen von Typhusblut eine Vermehrung von Typhusbazillen nicht oder erst nach längerer Zeit ermöglichen.

Bei Durchsicht der Literatur über die Bakteriendurchlässigkeit des Magendarmkanals wird man finden, dafs in einer ganzen Reihe von Arbeiten die angewandte Technik der Blut- und Organuntersuchungen heute der Kritik nicht standhalten kann: man übertrug Blut in flüssige und feste Nährböden, ohne Rücksicht auf das Verhältnis der Quantität zu nehmen; man beobachtete

1) Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr 39; Beitr. z. exper. Ther., H. 8.
2) Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., 29. Bd., S. 239.
3) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., 48. Bd., S. 67.
4) Virchows Archiv, 178. Bd., S. 82.

die Kulturplatten nicht lange genug; man schützte sie nicht vor Vertrocknung oder vor nachträglicher Verunreinigung; man brachte Organstücke ohne vorhergehende Zerkleinerung in Nährsubstrate, man liefs das Blut noch in den Organen und übergofs diese noch dazu mit festwerdenden Nährböden in der Erwartung, dafs die inmitten der bluthaltigen Gewebsmassen befindlichen Mikroorganismen durchwachsen würden, um dann an der Peripherie der Organstücke in der Gelatine oder im Agar durch Kolonienbildung ihre Anwesenheit anzuzeigen. Wie man sich leicht überzeugen kann, findet aber ein solches Durchwachsen durchaus nicht immer statt, denn auch das excidierte und namentlich das blutreiche Gewebe kann auf eingeschlossene Keime bakterizid wirken, oder aber das Durchwachsen erfolgt erst nach 6 oder 8 und mehr Tagen, zu einer Zeit, wo bei der in den meisten Laboratorien üblichen Methode der Aufbewahrung der Kulturschalen ohne Schutz vor Wasserverdampfung die durchgewachsenen Keime einen solchen wasserarmen, kümmerlichen Nährboden vorfinden, dafs es zu sichtbarer Vermehrung nicht kommt. Der verbreitetste Fehler aber ist der, dafs man zu wenig Blut oder nur Bruchteile von Organen zur Untersuchung heranzog. Anderseits kann man bei der Lektüre mancher Arbeiten, die über Bakterienbefunde in normalen Organen berichten, dieser Resultate doch nicht recht froh werden, weil man dabei der Zweifel, ob die betreffenden Keime Verunreinigungen entstammen, nicht enthoben wird.

Wenn man Aufschlufs über die Frage des Übertritts von Bakterien aus dem Darm in Blut- oder Lymphbahnen gewinnen will, so wird man unter Berücksichtigung der über diesen Gegenstand vorliegenden Untersuchungen darauf gefafst sein müssen, dafs, falls überhaupt eine Passage möglich ist, man nicht gröfsere Mengen, sondern nur einzelne Keime in den zu untersuchenden Medien antreffen wird. Angenommen, es treten Keime durch das Darmepithel, so könnten diese sich doch auf so zahlreichen Wegen auf ein so grofses Volumen verteilen, dafs schon eine nicht unerhebliche Menge den Darm passiert haben mufs, wenn man nach Aussaat von Lungen, Milz, Nieren, Leber und Blut auf

Nährböden Keime findet: denn auch damit verarbeiten wir ja immer nur einen Teil des Gesamtorganismus. Und vor allem mufs man damit rechnen, dafs bei Übertritt von Bakterien in Blut- und Lymphbahnen eine Gegenreaktion des Organismus zum Zweck der Eliminierung und Abtötung der Eindringlinge nicht lange auf sich warten läfst.

Wenn es sich aber um den Nachweis vereinzelter Bakterien handelt, so werden wir hier zunächst ebenso auf die Verwendung fester Nährböden verzichten müssen, wie z. B. bei Desinfektionsversuchen, wo wir die Testobjekte in Bouillon übertragen, um deu Keimen die günstigsten Wachstumsbedingungen anzubieten, um sie anzureichern uud dann ihre Identität festzustellen. Bei der Verwendung von Anreicherungslösungen sind aber dann Irrtümern die Tore geöffnet, wenn es sich um den Nachweis nichtspezifischer Keime handelt: es können hierbei z. B. Luftinfektionen zu ganz groben Täuschungen Anlafs geben. Es dürfte daher einfacher und einwandsfreier sein, leicht erkennbare, in der Luft der betreffenden Untersuchungsräume nicht vorkommende Bakterien dem Magendarmtraktus von Versuchstieren einzuverleiben, um sie dann nach einer bestimmten Zeit mit Hilfe von Anreicherungslösungen in dem Organismus aufzusuchen. Abgesehen von der leichteren Auffiudbarkeit der betreffeuden Keime ermöglicht die Methode, worauf besonderes Gewicht zu legen ist, dafs die zu untersuchenden Organe in ausreichender Weise zerkleinert werden können, ohne dafs man Gefahr läuft, durch Luftkeime, die bei der Zerkleinerung sich leicht einstellen, irregeführt zu werden: gerade der zu befürchtenden Luftkeime wegen dürfte bisher eine genügende Aufschliefsung der Organe kaum erfolgt sein.

Bei den meisten Versuchen bediente ich mich des von Agarplatten abgehobenen Prodigiosus, in mehreren Fällen des Roten Kielers, in vereinzelten Fällen des Megatheriom, Bact. coli und einer Oberhefe. Es kam mir zunächst darauf an, die Frage der Resorption oder Invasion unabhängig von der Frage der Infektion zu behandeln. Aus diesem Grunde wurden saprophytische Keime gewählt. Obwohl man, wie bekannt, den Pro-

digiosus nicht mehr unter die gänzlich harmlosen Bakterien rechnen kann, glaube ich doch für die vorliegenden Versuche den verwendeten Stamm als saprophytisch gelten lassen zu dürfen: erwachsene Kaninchen vertrugen ohne jede sichtbare Störung die durch Schlundsonde eingeführte enorme Kulturmasse von sechs grofsen Agarplatten (Durchmesser 16 cm, 2 Tage 27°), ebenso wurden von Kaninchen 5 Ösen Agarkultur subkutan glatt vertragen. Aber selbst wenn diese Vorversuche gerade nur solche Kaninchen betroffen haben sollten, die eine erhöhte Widerstandskraft gegen den Prodigiosus besafsen, so wäre das um deswillen irrelevant, weil die Prüfung des Blutes und der Organe meiner Versuchstiere in allen Fällen zu einer Zeit — nämlich 1—4½ Stunden nach Verabreichung — erfolgte, wo eine Vermehrung der eingeführten Keime nicht stattgefunden haben konnte. Wartet man länger oder füttert man, wie das verschiedene Autoren taten, mehrere Tage lang, so können bei einem negativen Befund im Blut und in den Organen doch die verfütterten Keime vorher einmal vorhanden gewesen sein. Der Organismus hat eben dann Zeit gehabt, die betreffenden Keime zu eliminieren oder vermehrungsunfähig zu machen. Anderseits kann ein positiver Befund nach einer mehrere Tage hindurch wiederholten Fütterung ebensogut auf eine Vermehrungstätigkeit der einverleibten Mikroorganismen zurückzuführen sein.

Was die Art der Einführung des Bakterienmaterials anlangt, so wurden die Keime in sterilisiertem Wasser oder Milch suspendiert bei noch säugenden Tieren mit Saugfläschchen, das ca. 5 ccm fafste und mit kleinem Gummisaughütchen versehen war, verabreicht. Bei gröfseren Versuchstieren war beabsichtigt, zur Verhütung der Propagierung der Keime in die Umgebung die Bakteriensuspension per Schlundrohr einzuführen. Obwohl hierzu ganze weiche Nélatons Verwendung fanden, habe ich doch die Überzeugung gewonnen, dafs man hierbei auch bei vorsichtigstem Ein- und Ausführen in vielen Fällen Läsionen der Schleimhautoberfläche verursacht, die den Eintritt von Bakterien begünstigen. Infolgedessen wurden des weiteren die Keime der Nahrung zugemischt, und zwar wurde bei Verfütterung an Kaninchen der Agarkulturbelag zwischen Kohlrabischeiben gegeben, bei Ver-

fütterung an Hunde und Katzen erfolgte die Vermeugung mit gewiegtem Pferdefleisch. Leider ermöglicht diese Art der Verabreichung oft nur eine annähernde, keine genaue Bestimmung des verfütterteu Kulturquantums, da die Versuchstiere, namentlich die Kanincheu, nicht immer alles Futter innerhalb kurzer Zeit auffrafsen. Feruer ist es bei diesem Einfuhrmodus unvermeidlich, dafs das Fell des Versuchstieres mit den verfütterten Keimeu besudelt wird. Damit besteht bei der nachfolgenden Blutentnahme oder bei der Sektion die nicht gering einzuschätzeude Gefahr, dafs die Nährböden durch herumfliegende Haare Veruureiuigungen mit deu verfütterteu Keimeu erfahren. Man schränkt diese Gefahr ein, wenn man während des Fütterns und während der Zeit vom Füttern bis zur Blutentnahme oder Tötung es den Tieren unmöglich macht, mit der Schnauze das Fell zu berühren, aus diesem Grunde wurden kleinere Versuchstiere in Säcke so eingesteckt, dafs nur der Kopf unbedeckt blieb oder sie kamen in die v. Michelschen Kaninchenhalter, für gröfsere Tiere wurden geeignete Käfige verwendet. Trotz dieser Vorsichtsmafsregeln ist es uubedingt erforderlich, dafs man Fütterung und Blutentnahme bzw. Sektion in zwei voneinauder möglichst weit entfernten Zimmeru, zwischen denen ein Verkehr nicht stattfinden darf, vornimmt. Fütterung und Sektion dürfeu nicht von derselben Person ausgeführt werden.

Die Tötung der Tiere geschah bei Kaninchen zunächst durch Nackenschlag, bei Hundeu durch Nikotin. Da aber in beiden Fällen hierbei mehrmals eine Aspiration des verfütterten Keimmaterials bis in die gröfseren Bronchien, ja auch bis in die feinsten Bronchien stattfand, so wurde für viele Fälle das Strangulieren in der Schleife eines am einen Ende befestigten Tuches oder Bandes vorgezogen, man vermeidet hierbei durch kräftig und plötzlich einsetzeuden Zug am freien Ende jedes Aspirieren von Mundschleim. Die Tiere wurden dann sofort abgebalgt, Schwanz und Pfoten abgetrennt. Der Rumpf wurde entweder im ganzen in Sublimat 1‰ eingetaucht oder sorgfältig damit gewaschen, der Kopf wurde in ein mit Sublimat befeuchtetes Tuch gehüllt, Sektionsbrett und Fixiernadeln erfuhren gleichfalls

eine ausgiebige Befeuchtung mit Sublimat. Dasselbe geschah nach dem Einbringen des Kadavers in das Sektionszimmer. Die Kadavereröffnung erfolgte mit heifsen, in der Flamme ausgeglühten Instrumenten. Zur Herausuahme der Organe dienten ausgeglühte und erkaltete Instrumente, die bei der Entnahme jedes neuen Orgaus gewechselt wurden. Dasselbe geschah, sobald Magen oder Darm zur Herausnahme von Organen berührt werden mufsten. Die Organe kamen gesondert in sterile Glasdoppelschalen oder in mit Fliefspapier bedeckte Reibschaleu, innerhalb deren sie weitgehend zerkleinert wurden, so dafs die gröfsten Stücke nicht gröfser als Kirschkerne waren. Die zerkleinerten Massen wurden mit sterilen Pinzetten oder Platinspatel in sterile Bouillon übertragen, die auf Reagensröhrchen und kleinere und gröfsere Rund- oder Erlenmeyersche Kölbchen aufgefüllt war. Für ein kleineres Versuchstier kamen dabei ca. $1^1/_2$ l Nährbouillon zur Verwendung, für die erwachsenen Tiere $2^1/_2$—$3^1/_2$ l. Die Anreicheruugsgläser wurden bei ca. 27° gehalten und zehn Tage hindurch beobachtet. Von denjenigeu Gläsern, die Keimwachstum erkennen liefsen, wurde eine Platinspirale der Flüssigkeit entnommen und weiter untersucht: bei den Versuchen mit Prodigiosus und rotem Kieler durch Verimpfen auf Kartoffelröhrchen. Wiesen die Kartoffelröhrchen nach 1—2 Tage langem Verweilen bei 22° keine Rotfärbung, sondern andersartigen Kulturbelag auf, so wurde nochmals auf die Anreicherungslösungen zurückgegangen und eine Serie von mehreren β- und γ-Agarplatten davon gefertigt: es gelang auf diese Weise in der Tat, noch einige Male die Anwesenheit von Prodigiosus in der Anreicherung nachzuweisen, obwohl er von anderen Keimen so überwuchert war, dafs auf der Kartoffelfläche die Rotfärbung nicht aufkommen konnte.

In vielen Fällen erschien es wünschenswert, das Blut der Tiere gesondert zu untersuchen und die Organe in möglichst blutleerem Zustande in die Kulturgläser zu übertragen. Infolgedessen entblutete ich von der rechten Karotis aus die Tiere, um dann erst die Organe herauszunehmen. Zum Auffangen des Blutes wurde reichlich Nährbouillon benutzt und für weitgehende

Verdünnung Sorge getragen. Der Nährbodenverbrauch erhöhte sich damit bei den erwachsenen Tieren auf 4—5 l. Vor Präparation der Karotis wurde das Fell des aufgespannten Tieres aufserhalb des Sezierraumes sorgfältig mit Sublimat abgewaschen und mit befeuchteten Sublimattüchern bedeckt. Bei jedem Versuch überzeugte ich mich durch sechs rings um das Aufspannbrett aufgestellte, mit Agar oder Bouillon beschickte Doppelschalen, deren Deckel während der sämtlichen Manipulationen abgehoben blieb, von dem Keimgehalt der Luft. Die Schalen wurden bei ca. 27° aufbewahrt, von den Bouillonschalen wurden Kartoffeln geimpft und Gelatineplatten gegossen. Es zeigte sich, dafs die angewandten Vorsichtsmafsregeln durchaus genügten, eine Verunreinigung der Luft bzw. der Kulturgläser durch die verfütterten Keime auszuschalten: auf der ca. 360 qcm grofsen Plattenfläche war niemals Prodigiosus oder Roter Kieler aufgefallen. Ebensowenig konnte jemals auf den exponierten Luftplatten Bact. coli oder Proteus gefunden werden.

Obwohl es zunächst nur darauf ankam, in den Anreicherungslösungen die verfütterten Keime aufzusuchen, so wurde doch auch in einer Anzahl von Fällen eine nähere Identifizierung derjenigen Bakterien vorgenommen, welche sonst noch in den geimpften Kulturgläsern zu finden waren. Zeigte der hängende Tropfen Kokken oder Sarcinen, so wurden die Gläser nicht weiter beachtet. Ergab das Präparat Stäbchen, so wurden diese näher untersucht.

II. Versuche an erwachsenen Tieren.

1. **Fox, 7,2 kg, erhält früh 8 Uhr die übliche Ration von Spratts Hundekuchen, mittags 12 Uhr 1 kg gehacktes Pferdefleisch, vermischt mit dem Belag zweier grofser (2r = 16 cm) Prodigiosusagarschalen (1 Tag 27°). Frifst sofort alles auf. Nach 2 Stunden mit Nikotin vergiftet, bricht dabei fast die Hälfte des Futters. Milz, Nieren, Mesenterialdrüsen, Leber, Bronchialdrüsen, Herzblut, Lungen werden auf ca. 80 Bouillonröhrchen und 24 Bouillonkolben (Inhalt 50—250 ccm) verteilt. Vom Darminhalt der verschiedensten Partien werden mit je zwei Ösen Agarplatten gegossen.**

   Ergebnis: 2 Lungenröhrchen Prodigiosus +, in allen anderen angegangenen Gläsern 0 Prod., 0 Stäbchen. Darminhalt bis Coecum: Prod. +.

2. Fox, 8,5 kg, erhält früh kein Futter; 12 Uhr mittags 1/2 kg mit Schweinefett vermengtes Pferdefleisch und drei grofse Agarschalen Prod. Frifst alles sofort. Nach 3 Stunden Nikotinvergiftung. Bricht nicht. Impfung von 76 Bouillonröhrchen und 29 Kolben. Agarplatten vom Darminhalt.

Ergebnis: 1 Bouillonröhrchen und 1 Bouillonkolben von Lunge: Prod. +. Sonst nirgends Prod. In 2 Röhrchen mit Mesenterialdrüsen: Bact. coli. Darminhalt bis Coecum: Prod. +.

3. Brauner Rehterrier, 6,1 kg, erhält früh kein Futter; 11 Uhr 1/2 kg Pferdefleisch mit 3 grofsen Agarplatten Prod.; nach 4 1/2 Stunden entblutet aus rechter Karotis; 47 Röhrchen, 9 Kolben mit Blut; 41 Röhrchen und 14 Kolben mit Organmaterial geimpft. Vom Darminhalt Agarplatten. Im unteren Dünndarm massenhafte Askariden, doch erscheint die Darmschleimhaut intakt.

Ergebnis: Alle Gläser: 0 Prod., 0 Stäbchen. Im Darminhalt bis Coecum massenhaft Prod.

4. Langbeiniger Teckel, schwarz, 6,7 kg, erhält früh kein Futter; 11 1/2 Uhr 2 grofse Agarplatten Prod. in 1/2 kg Pferdefleisch mit Zusatz von Schweinefett; nach 4 1/2 Stunden aus rechter Karotis entblutet; 59 Röhrchen und 11 Kolben mit Blut, 44 Röhrchen und 28 Kolben mit Organen geimpft.

Ergebnis. Alle Gläser 0 Prod, 0 Stäbchen. Darminhalt bis Coecum: Prod. +.

5. Wolfsspitz, 7,4 kg, erhält früh 9 Uhr 1 grofse Agarplatte Prod. in 1/2 kg Pferdefleisch. Nach 4 1/2 Stunden aus Karotis entblutet. 42 Röhrchen und 9 Kolben mit Blut, 52 Röhrchen und 16 Kolben mit Organen geimpft. Im unteren Dünndarm Askariden Darmschleimhaut ohne Befund.

Ergebnis: Alle Gläser 0 Prod. In 1 Mesenterialdrüsen-Röhrchen: Bact. coli.

6. Katze, schwarzweifs, 1840 g, erhält früh 9 Uhr 1/2 Pfund Pferdehackfleisch + 2/3 grofse Agarplatte Prod.; nach 3 1/4 Stunden stranguliert. Herzblut und Organe verteilt auf 48 Röhrchen und 22 Kolben.

Ergebnis: Alle Gläser 0 Prod. Darminhalt bis Coecum: Prod. +.

7. Katze, schwarz, 2440 g, erhält früh 9 1/4 Uhr 2 grofse Agarplatten Prod. mit 1/2 Pfund Pferdehackfleisch. Nach 3 3/4 Stunden stranguliert. Herzblut und Organe auf ca. 50 Röhrchen und 15 Kolben verteilt.

Ergebnis: Alle Gläser 0 Prod. Darminhalt bis Coecum: Prod. +.

8. Kaninchen, grau I, 1960 g, erhält früh 9 3/4 Uhr 2 grofse Schalen Prod. zwischen Kohlrabi und Mohrrüben; frifst etwa die Hälfte. Nach 3 Stunden geschlagen.

Ergebnis: 2 Röhrchen Lunge, 1 Milz, 4 Leber, 1 Mesenterialdrüse Prod. +. do. Darm bis Coecum.

9. Kaninchen, schwarz I, 2,1 kg, erhält Belag von 6 Prod. Kartoffelhälften zwischen Kohlrabischeiben; frifst fast alles. Nach 3 Stunden entblutet. Blut und Organe verteilt auf ca. 40 Röhrchen und ca. 20 Kolben Bouillon, die gleiche Nährbodenmenge auch in den folgenden Versuchen. — In keinem Kulturglas Prod., im Darminhalt bis Coecum Prod. +.

10. Kaninchen, gelb I, 1,9 kg, erhält 1 grofse Agarplatte Prod. Nach $4^{1}/_{2}$ Stunden entblutet. Blut und Organe 0 Prod. Darminhalt bis Coecum Prod. +.
11. Kaninchen, grau II, nicht gewogen, grofses Tier, erhält 1 Agarschale Prod.; frifst etwa $^{2}/_{3}$ des Futters. Nach 4 Stunden stranguliert. 1 Röhrchen Mesenterialdrüsen, 1 Leberröhrchen, 1 Leberkolben Prod. +. Darminhalt bis Coecum Prod. +.
12. Kaninchen, schwarz II, 2050 g, erhält $^{1}/_{2}$ Schale Roten Kieler zwischen Kohlrabi; frifst fast alles. Nach $3^{1}/_{4}$ Stunden stranguliert. Blut und Organe 0 Roter Kieler. Darminhalt bis Coecum Prod. +.
13. Kaninchen, schwarz III, 1700 g, erhält 2 Platten Megatherium (24 Stunden 27°, Agar), nach $4^{1}/_{2}$ Stunden entblutet. Blut und Organe 0 Megatherium. Im Darminhalt bis hinter Coecum: Meg. +.
14. Kaninchen, gelb II, 2120 g, erhält mit Kohlrabi 1 Platte Bact. coli (aus Kaninchenkot isoliert). Nach $4^{3}/_{4}$ Stunden entblutet. Nirgends in den Organen oder im Blut Bact. coli.
15. Kaninchen, weifsgelb I, 1,6 kg, erhält 2 Würzagarplatten Hefe Nr. 696. Nach 6 Stunden entblutet. Blut und Organe verteilt in verdünnte Bierwürze. In keinem Kulturglase Hefe, hingegen in 1 Mesenterialdrüse B. coli. Darminhalt (Würzagarplatten) bis Coecum reichliche Hefe Nr. 696
16. Kaninchen, gelb III, 2340 g, erhält 1 Agarplatte Roten Kieler; frifst nur die Hälfte. Nach $4^{1}/_{2}$ Stunden stranguliert. Alle Kulturgläser frei von Roten Kieler. 1 Mesenterialdrüse Proteus vulg.
17. Kaninchen, weifsgelb II, 2020 g, erhält 1 Platte Roten Kieler. Nach 5 Stunden stranguliert. Alle Gläser frei von Roten Kieler. Darminhalt +
18. Kaninchen, grau III, 1780 g, erhält 1 Platte Roten Kieler. Nach $3^{3}/_{4}$ Stunden stranguliert. 1 Leberröhrchen und 1 Mesenterialdrüse enthalten Roten Kieler, Darminhalt bis hinter Coecum ebenfalls.
19. Kaninchen, grau IV, 2040 g, erhält 1 Platte Prod.; frifst etwa $^{2}/_{3}$ des Futters. Nach $3^{3}/_{4}$ Stunden stranguliert. Alle Kulturgläser frei von Prod. Im Coecum Prod. +.
20. Kaninchen, schwarz IV, 1,8 kg, erhält 1 Platte Prod.; frifst fast alles. Nach 3 Stunden geschlagen. Alle Röhrchen und Kolben 0 Prod. Darminhalt bis Coecum Prod. +.
21. Kaninchen, gelb IV, nicht gewogen, erwachsenes Tier, erhält $1^{1}/_{2}$ Platte Prod.; frifst kaum die Hälfte des Futters. Nach 4 Stunden entblutet. Blut und Organe 0 Prod. Darminhalt bis Coecum Prod. +.

Aufser diesen Versuchen sind noch fünf Kaninchenversuche zu erwähnen, bei denen Prodigiosus (in vier Fällen) und Roter Kieler (ein Fall) per Nélaton eingeführt wurden (20 ccm Wasser + Belag von 2—5 Kartoffelröhrchen). Bei einem Prodigiosuskaninchen wurden die Kulturgläser frei von Prodigiosus gefunden, hingegen konnten bei den anderen immer in der Leber, zweimal in Mesenterialdrüsen, je einmal in Blut und Milz die verabreichten Keime gefunden werden. Da ich diese Methode der Einführung nicht für einwandsfrei halte, so sind diese Versuche oben nicht mit angeführt. Sie werden aber erwähnt, weil sie zum mindesten beweisen, dafs

recht geringfügige Alterationen der Schleimhaut des oberen Teiles des Intestinaltraktus Eintrittspforten für Keime abgeben.

Aufser den beiden mit Askariden behafteten Hunden waren sämtliche anderen Tiere als normal zu bezeichnen. Drei Kaninchen, bei denen die Sektion Koccidiose ergab, wurden verworfen, ohne dafs die Untersuchung auf die verfütterten Keime zu Ende geführt wurde. Aus den Befunden an den vor dem Konstatieren der Koccidiose angelegten Kulturen ist ein Beweis, dafs Koccidiose des Darms den Übertritt von verfütterten Keimen begünstige, nicht abzuleiten. Nach Klimenkos zahlreicheren Versuchen ist das jedoch anzunehmen.

Die vorliegenden Fütterungsversuche an erwachsenen Tieren ergeben, dafs bei einmaliger Verabreichung von Prodigiosus an Hunde und Katzen niemals im Blut oder in den Organen die verfütterten Keime wiedergefunden werden konnten. Es stimmt das Resultat überein mit dem der meisten Autoren. Wenn den letzteren von verschiedenen Seiten entgegengehalten wird, dafs dieser Befund nicht zu verwundern sei, weil eben der Magensaft der Versuchstiere die eingeführten Keime vernichte, so ist durch die vorliegenden Prüfungen des Darminhaltes bewiesen, dafs die verfütterten Keime bis in die untersten Darmpartien und zum Teil in grofsen Quantitäten gedrungen waren. — Selbst bei zwei mit Askariden behafteten Hunden konnte ein Übertritt der verabreichten Bakterien nicht beobachtet werden. Hingegen ist hervorzuheben, dafs bei zwei Hunden, darunter einem Askaridenhunde, in den Mesenterialdrüsen Bact. coli aufgefunden wurde. Man geht wohl nicht fehl, wenn man annimmt, dafs diese Resorption oder Invasion nicht während der Verdauung des Prodigiosusfutters erfolgt ist, sondern weiter zurückliegt: dafür spricht, dafs gerade bei dem einen Hunde der ganze Darmtraktus reichlichste Prodigiosusmengen aufwies. Der Kolibefund bei dem mit Darmschmarotzern behafteten Hunde hat nichts Auffallendes. Klimenko hat schon darauf hingewiesen, dafs mit Wahrscheinlichkeit Askariden in der Darmschleimhaut zeitweise solche Veränderungen herbeiführen, welche den Durchtritt von Bakterien begünstigen. Allerdings konnte ich ebensowenig wie Klimenko eine solche Schleimhautalteration nachweisen. Der andere, sicher nicht mit makroskopisch sichtbaren Darmwürmern behaftete

Hund, bei dem Bact. coli in Mesenterialdrüsen sich fand, besafs ebenfalls eiue Schleimhaut, die nirgends eine Abnormität erkennen liefs. Nimmt man an, dafs die normale Darmschleimhaut des Hundes keimdicht ist, so müssen hier vordem pathologische Zustände ohne Zurücklassung sichtbarer Veränderungen existiert haben.

Während die Resultate der Versuche an Hunden und Katzen für die Richtigkeit des Satzes vou der physiologischen Bakterienundurchlässigkeit der Darmschleimhant sprechen, fällt es schwer, die Ergebnisse der Kaninchenfütterungen mit dieser Lehre in Einklang zu bringen.

Bei drei von den acht mit Prodigiosus oder Rotem Kieler gefütterten Kaninchen konnten in Organen oder im Blut die verfütterten Keime nachgewiesen werdeu. Es mufs auch hier betont werden, dafs die Besichtiguug der Schleimhaut des ganzeu Magendarmkanals etwas Pathologisches nicht erkennen liefs, es handelte sich, wie auch die Gewichte zeigen, um vorzüglich genährte Tiere. Man mufs demnach entweder annehmen, dafs bei normalen Kaninchen ein Übertritt von verfütterten Bakterien erfolgen kann oder aber, dafs die verwendeten Kaninchen nicht absolut normale geweseu sind, sondern z. B. mikroskopische Läsionen besafsen. Vielleicht aber braucht man gar nicht einmal an pathologisch veränderte Stellen zu denken. Es könnten doch auch im Ablauf des Lebens der Darmepithelien selbst Momente für ein Eiudringen von Bakterien gegeben sein. Wenn man bedenkt, welche gewaltige Oberfläche der Verdauungstraktus und insbesondere der Darmkanal mit seinen Millionen von Zotten repräsentiert, und welche Summe von Epithelzellen mit den verfütterten Mikroorganismen in iunigen Kontakt geraten, so könnte man sich vorstellen, dafs iu diesem ungeheuren Zellenstaate gerade zur Zeit der intensiveren Inanspruchuahme der einzelnen Glieder ein stärkeres Neubilden und Absterben, das auch hier zur Norm gehört, erfolgt, und dafs die reichlich eingeführten Keime hier und da Zellen vorfinden, die ihrer Aufgabe entweder nicht mehr völlig gewachsen sind, so dafs die lebhaft beweglichen, verfütterten Bazillen einzudriugen vermögen und weiter geführt werden, so-

lange die Zelle noch im Zusammenhange mit der Mukosa steht, oder aber man könnte auch gerade die ganz junge Zelle, die für eine andere abgestofsene eben als Ersatz eingerückt ist, als die am wenigsten widerstandsfähige ansehen, eine Auffassung, die nach den im zweiten Teile dieser Arbeit niedergelegten Resultaten nicht ganz ohne Berechtigung sein dürfte. Man würde mit solchen Vorstellungen sich doch nicht zu weit von der bisherigen Lehre der Undurchlässigkeit des normalen Mukosa-Epithels entfernen und die Brücke schlagen zu der Anschauung, dafs auch durch die normale Darmschleimhaut Keime hindurchtreten können.

Dafür, dafs beim normalen Kaninchen nicht in der ganzen Kontinuität der Darmschleimhaut ein Übertritt erfolgt, sondern nur an gewissen Stellen, spricht auch der bedeutende, ja oft ausschlaggebende Einflufs, den die Quantität der zugeführten Keime ausübt. Würde überall ein Durchtritt möglich sein, dann müsste eben doch ein solcher öfter zu beobachten sein. Schon die Darminfektionsversuche lehren die Bedeutung der Quantität: nur mit sehr starken Dosen von Choleravibrionen, die bei intraperitonealer Einverleibung in kleinster Menge wirken, kann man bei Meerschweinchen und Kaninchen nach Einverleibung per os positive Erfolge haben. An Kaninchen stellte Kazarinow[1]) fest, dafs Dysenteriebazillen, von denen 0,0005 g bei Injektion in die Bauchhöhle in weniger als 24 Stunden tödlich wirkten, in der Menge von fünf Agarkulturen (d. s. etwa 100 mg) bei Einführung in den Magen fast reaktionslos vertragen wurden. — Schönwert[2]) berichtet über eine Hühnercholerakultur, von der ein Bazillus genügte, um nach subkutaner Impfung eine Taube zu töten, während bei Einverleibung per os mindestens 60000000 Individuen zur Infektion der so empfänglichen Taube verwendet werden mufsten. — Bei der Fütterung mit geringen Keimmengen wird davon noch ein Teil im Magen zugrundegehen und vereinzelte, in den Darmtraktus hinübergelangende Bakterien werden nur mit einem Bruchteil von Epithelzellen in Berührung kommen. Im allgemeinen überschätzt

1) Archiv f. Hygiene, Bd. 50, S. 66.
2) Archiv f. Hygiene, Bd. 17, S. 361.

man nach meinen Erfahrungen, die sich auf quantitative Bestimmung der Keime des Darminhaltes gefütterter Tiere stützen, die bakterizide Kraft des Magensaftes. Die negativen Resultate, die man bei Tauben erhält, wenn man ihnen von der virulentesten Kultur nicht 60000000, sondern 50 oder 40000000 verabreicht, sind nicht so zu erklären, dafs der Magensaft diese letzteren Keimmengen gerade noch abzutöten vermag, die höheren nicht mehr, sondern es gelangen auch bei der Einfuhr erheblich niedrigerer Zahlen immer verfütterte Keime nach dem Darm. Eine Infektion kommt aber erst dann zustande, wenn eine gewisse Zahl von Bakterien vorhanden ist, sowie ein einzelner Mensch einen breiten gepflasterten Weg ganz durchschreiten kann, ohne auf eine irgendwo befindliche lokale Unebenheit oder Lücke zu treffen, während die Möglichkeit, dafs hier ein Menschenfufs stolpert, viel eher gegeben ist, wenn ganze Menschenreihen den Weg zurücklegen. Wenn es der Zufall will, kann auch ein einzelner Keim auf eine solche Stelle bei seinem Weg durch den Verdauungstraktus treffen, aber zur Regel gehört es nicht.

Die Ansicht von der physiologischen Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für Bakterien mufste so lange als beinahe selbstverständlich erscheinen, als die Physiologen einen Durchtritt von Fettröpfchen annahmen: denn wenn Fettröpfchen von den Epithelzellen durch Bewegungen des Protoplasmas und ihres Stäbchensaumes aufgenommen werden, dann wäre gar nicht einzusehen, weshalb dicht an diese Fettröpfchen angelagerte Mikroorganismen nicht auch ins Zellinnere und in die Darmwand gelangen sollten. In der Tat sind ja von Bizzozero[1], Ribbert[2], Manfredi[3] und Ruffer[4] Bakterien in den Lymphfollikeln des Proc. vermiform. und des sacculus rotundus beim normalen Kaninchen gefunden worden. Wassilieff-Kleimann[5] bestätigte diese Befunde und weist weiterhin nach,

1) Zentralbl. f. med. Wissensch., 1885, S. 801.
2) Deutsche med. Wochenschr., 1885, S. 197.
3) Baumgarten, Jahresb. 1886, S. 376.
4) Quartaly Journal of microsc. Science, 1890, p. 481.
5) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 27. Bd., S. 191.

dafs nach Verfütterung von Karmin und Tusche in den Follikeln sämtlicher Peyerschen Plaques des Kaninchens Karmin und Tuschkörner in grofser Menge anzutreffen sind. Wenn Manfredi beweist, dafs die in der Darmwand anzutreffenden Bakterien entwicklungsunfähig sind, Versuche, die unter Variation der Nährböden der Wiederholung bedürfen, so könnte man mit Hinblick auf die zahlreichen negativen Befunde in Lymphe, Blut und Organen sich vorstellen, dafs die Epithelzelle oder die Lymphfollikel die Stellen sind, an welchen die normale Darmdecke passierende Bakterien festgehalten und vermehrungsunfähig gemacht werden, so dafs der Versuch, sie aus Organen zu kultivieren, negativ ausfallen mufs. Dieser Auffassung steht zunächst noch die Tatsache entgegen, dafs die positiven Bakterienbefunde in der Darmschleimhaut recht selten sind und nur an Kaninchen gewonnen wurden. Es mufs freilich zugegeben werden, dafs die Herstellung von Schnitten für den Nachweis von Bakterien nicht so viel leistet, wie vielfach geglaubt wird: ein negativer Befund in Schnitten beweist bei weitem nicht immer die Abwesenheit von Bakterien, man denke an die Relation zwischen Dicke des Schnittes und Bakterienmafsen, ferner an die Schwierigkeit der Differenzierung und an die quantitative Unzulänglichkeit der mikroskopischen Betrachtung (vgl. meine Bemerkungen Berliner Klin. Wochenschr. 1903 S. 1021). Der mikroskopische Nachweis durchgetretener Keime könnte aber auch deshalb auf Schwierigkeiten stofsen, weil sie einer raschen Auflösung unterliegen, in dieser Richtung sind meines Wissens Färbungen noch nicht vorgenommen. — Man müfste glauben, dafs diese permanente Reaktion und Gegenreaktion zwischen Körperzellen und Bakterien sich auch in dem Gehalt des Serums an bakteriziden und agglutinierenden Substanzen äufsern müsse. Das normale Serum besitzt aber solche Stoffe z. B. dem zugehörigen B. coli gegenüber nicht oder nur in geringer Menge. Ein absoluter Beweis dafür, dafs ein solcher Kampf tatsächlich stattfindet, ist das Fehlen solcher gegen Bact. coli spezifisch wirksamen Stoffe übrigens nicht. Dafs die hier in Betracht kommenden Zellen keinen nennenswerten Einflufs auf die Agglutininbildung ausüben, scheint aus den

Kurven der Agglutininbildung bei Typhus hervorzugehen: hier finden in der Inkubationszeit doch wohl Angriffe auf die Darmschleimhaut und den Follikelapparat statt, diese finden aber keinen Ausdruck in der Agglutinationsgröfse, vielmehr tritt die Agglutininbildung erst dann hervor, wenn sich gröfsere Herde von Typhusbazillen entwickelten. — —

Die Lehre vom Übergang emulgierten Fettes durch das Darmepithel hat sicherlich die Arbeiten von Porcher und Desoubry[1]) beeinflufst, die im normalen Chylus namentlich während der Fettverdauung Bakterien gefunden haben wollen. Diesen Befunden stehen die negativen Resultate von M. Neisser[2]), Opitz[3]) und Wrzosek[4]) gegenüber. Man kann einwenden, dafs hier negative Resultate weniger beweisend seien als positive, da ja der Nachweis von Bakterien im Chylus zumal auf festen Nährböden auf ähnliche Schwierigkeiten stöfst wie im Blute und auch der Chylus bakterienwidrige Eigenschaften haben könne. Die letztere Frage wird von M. Neisser verneint. Das Gegenteil behaupten Meltzer und Norris[5]), sowie nach neueren Versuchen Wrzosek.[4]) Diese Chylus- und Lymphuntersuchungen sind sämtlich an Hunden ausgeführt, sie berühren meine Fütterungsversuche am Kaninchen nicht. Aber auch wenn man sie verallgemeinern will, so bleibt es doch fraglich, ob in vitro eine etwaige bakterizide Wirkung des Chylus zum Ausdruck kommen mufs und ob, wenn sie nicht vorhanden ist, das Fehlen von Bakterien im Chylus bzw. die negativen Kulturversuche nicht auf eine Hemmung des Wachstumsvermögens durch eine Kraft, die zwischen Bakterieneintritts- und Chylusentnahmestelle einwirkt, zu beziehen ist. Eine negative Lymphuntersuchung hinter den Lymphdrüsen kann nichts Auffälliges sein, da es keines Beweises mehr bedarf, dafs die Lymphdrüsen als Filter funktionieren, und da es aufserdem wahrscheinlich gemacht ist, dafs

1) Compt. rend. Soc. biol., 1895.
2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., 22. Bd., S. 12.
3) Ebenda, Bd. 29, S. 505.
4) a. a. O.
5) Journ. f. exper. Med., 1897.

hier auch eine Aufhebung der Vermehrungsfähigkeit abfiltrierter Mikroorganismen erfolgen kann.

Die Lehre von der Resorption emulgierten Fettes wird aber heute von vielen Physiologen nicht mehr als richtig anerkannt, vielmehr neigt man zu der Anschauung, dafs die Fette im Darm vollständig zerlegt und als Fettsäuren (bzw. Seifen) resorbiert werden. Damit würde die Voraussetzung für die Untersuchungen einiger Autoren in Wegfall kommen, ja man kann sogar sagen, dafs der seltene Befund von Bakterien in den Darmepithelzellen des Darms als ein Argument gegen die Emulsionshypothese dienen könne.

Wenn es sonach als unwahrscheinlich gelten mufs, dafs Bakterien bei erwachsenen Tieren von allen Darmepithelzellen aufgenommen werden können, so kommen doch weiterhin noch für einen etwaigen Durchtritt in Frage die Kittsubstanz der Epithelzellen, die Interzellularbrücken oder -räume. Wenn, wie sichergestellt ist, Leukozyten zwischen die Darmepithelzellen von der basalen Seite der Zotten her eindringen und sogar, wie viele annehmen, nach dem Darmlumen durchtreten können, dann mufs zugegeben werden, dafs denselben Weg in umgekehrter Richtung auch Bakterien zurücklegen können und zwar entweder allein durch die präformierte Pforte oder aber getragen von Leukozyten, die, wie von anderen angenommen wird, nach ihrem Vordringen in die Epithelschicht wiederum zum Zottenparenchym, beladen mit den aufgenommenen Substanzen (Landois[1]) meint in diesem Falle Fettkörnchen), zurückkehren. Die weiteren mikroskopischen Untersuchungen müssen hier Aufklärung bringen, freilich stellen sich ihnen, wie schon Ribbert[2]) hervorhebt, nicht geringe Schwierigkeiten entgegen.

Nach meinen Versuchen kann die Frage, ob unter normalen Verhältnissen Keime die Darmwand von erwachsenen Organismen passieren können, nicht mit einem einfachen Ja oder Nein beantwortet werden. Die verschiedenen Tiergattungen verhalten sich bei einmaliger Verfütterung gröfserer Keimmengen verschieden;

1) Lehrbuch d. Phys., 1900, S. 384.
2) a. a. O.

Kaninchen nehmen hierbei eine andere Stellung ein als Hunde und Katzen. Wenn ich bei Kaninchen positive Resultate erhielt, so stimmt das mit den Untersuchungen Ribberts, Bizzozeros und der Wassilieff-Kleimann überein, die eben auch nur in der Kaninchendarmwand Bakterien fanden. Man kann nun sagen, es handle sich doch auch bei meinen Versuchen nicht um einen Massenbefund, sondern um vereinzelte Keime. Es ist aber schon oben ausgeführt worden, dafs ein Befund von geringen Bakterienmengen in den Organen kein Beweis dafür ist, dafs nun auch wirklich nur vereinzelte Keime die Darmschleimhaut passiert haben, es soll hier nur noch darauf hingewiesen werden, dafs selbst die kurze Zeit von 2 bis 3 Stunden dem Körper genügt, um auch gröfseren Bakterienmengen die Entwicklungsfähigkeit zu nehmen. Es ist das aus Versuchen zu entnehmen, die Halban[1]), ein Schüler Weichselbaums, an Kaninchen ausführte, um die Resorption von Bakterien bei lokaler Infektion zu studieren. Nach Stichinfektionen mit Prodigiosus an den Extremitäten wiesen die regionären Drüsen nach 5 Minuten 400, nach 12 Minuten 3000, nach 30 Minuten 2500, nach 1 Stunde 500, nach 2 Stunden 0 Keime auf, nach 3 Stunden 40, nach 4 Stunden 50 etc. Halban nimmt an, dafs in diesen Lymphdrüsen die resorbierten Keime ihre Lebensfähigkeit verlieren, es gelang ihm nicht, im Blute oder in der Milz innerhalb der betreffenden Zeit Prodigiosus zu finden. Wenn man auch mit der Untersuchungsmethodik Halbans — er untersuchte nur Milz und meist nur 1—2 ccm Blut — nicht einverstanden sein kann und wenn man damit die Annahme, dafs in den Lymphdrüsen allein diese starke Keimtötung erfolge, als nicht genügend gestützt ansehen mufs, so erhellt doch aus den Versuchen, dafs trotz reichlichster Keimzufuhr in die Lymphbahnen zu einer bestimmten Zeit innerhalb dieser nur vereinzelte Keime anzutreffen sind und dafs, auch wenn von der stark keimhaltigen Drüse eine Invasion in die Blutbahn erfolgt sein sollte, eine erhebliche Menge sich hier nicht lebensfähig erhalten konnte. Da es sich bei meinen

1) Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch., Wien. CV, Abt. III, Dez. 1896.

Versuchen in der Hauptsache um die gleiche Bakterienart und die gleiche Tiergattung wie bei Halban handelt, so erscheint die Annahme berechtigt, dafs der Befund vereinzelter Keime den Übertritt einer beträchtlich gröfseren Keimzahl bedeutet. Wenn man früher, als man im Blut und in Organen nach nicht spezifischen Keimen suchte, einen negativen Befund von Bakterien für beweisender ansah, als einen positiven, — eine Annahme, die durchaus ihre Berechtigung hat, wenn man bedenkt, wie viele an die Lösuug einer solchen subtilen Aufgabe herantreten, ohne sich der technischen Schwierigkeiten, d. h. der Verunreinigungsquellen bewufst zu sein, — so möchte ich für die vorliegenden Untersuchungen behaupten, dafs mir ein positives Resultat beweisender ist als ein negatives, und dafs ein negativer Befund nicht unter allen Umständen bedeutet, die spezifischen Keime seien in dem untersuchten Material nicht vorhanden oder nicht vorhanden gewesen.

Nach allem mufs ich den Satz, dafs ein Übertritt von Keimen durch die normale Darmschleimhaut unmöglich sei, dahin einschränken, dafs man bei Kaninchen mit einem solchen Übertritt zu rechnen hat. Akzentuiert man freilich das Wort normal, so kann ich keinen Beweis dafür erbringen, dafs diejenigen Kaninchen, bei denen die verfütterten Keime in Organen wiederzufinden waren, der makroskopischen Beurteilung sich entziehende Schleimhautschädigungen nicht doch besafsen. Sollte das der Fall gewesen sein, so wird man mit Hinblick auf die relative Häufigkeit positiver Befunde für einzelne Tiergattungen, wie z. B. für Kaninchen, den Satz der Keimdichte der Darmschleimhaut mit dem Notabene versehen müssen: das Abnorme gehört hier beinahe zur Regel.

Dafs die Darmwand verschiedener Tiere infektiösen Keimen verschiedenen Widerstand entgegensetzt, ist längst bekannt, es geht u. a. wiederum deutlich aus Neu(f)elthaus[1]) Versuchen am Hunde- und Ziegendarm hervor: unter Verwendung gleicher Kulturmengen von gleicher Virulenz konnte

1) Münchner med. Wochenschr., 1903, S. 1246.

Nebelthau feststellen, dafs bei Ziegen die Darmwand dem Eindringen der Tuberkelbazillen nicht den erfolgreichen Widerstand entgegensetzt, wie es der Darm beim Hunde tut.

Es bleibt übrig, die Tatsache nochmals hervorzuheben, dafs in Mesenterialdrüsen eines Hundes und zweier Kaninchen Bact. coli, und in einer solchen eines Kaninchens einmal Proteus vulg. zu finden waren: das läfst darauf schliefsen, dafs beim normalen Tier, und selbst beim Hund, öfter als man annimmt, im Darm heimische Bakterien Gelegenheit zum Eintritt in das Lymphgefäfssystem finden, wo sie, in Lymphdrüsen deponiert, eine Zeitlang lebensfähig bleiben können.

Die Untersuchungen haben aber keine Anhaltspunkte dafür gegeben, dafs beim normalen erwachsenen Tier ständig in den Organen Bakterien anzutreffen sind. Die entgegenstehenden Beobachtungen anderer Autoren sind entweder auf Verunreinigungen zurückzuführen, oder aber die betreffenden Autoren haben nicht eine Ausmusterung von Tieren mit Darmerkrankungen (Askariden, Koccidien) vorgenommen, ein Vorwurf, den mit vollem Recht schon Klimenko erhebt.

III. Versuche an jungen Tieren.

1. Säugendes Kaninchen, gelb I, 9 Tage alt, 105 g; wird 2 Stunden von der Mutter abgesetzt, saugt darnach 5 Minnten lang kräftig an einem zu dünner Spitze ausgezogenen Leinwand-»lutsch«, dessen Inneres mit Prodigiosusaufschwemmung durchtränkten Brotbrei enthält. Es wird peinlich daranf geachtet, dafs nur die Schnauze des Tieres mit dem Prodigiosussauger in Berührung kommt. Während der nun folgenden $^3/_4$ Stunde Wartens wird es durch Einwickeln des Körpers dem Tier unmöglich gemacht, mit der Schnauze das Fell zu berühren. Sodann wird die Schnauze mit Sublimat abgewaschen, das Einwickeltuch wird vor dem Ablegen mit Sublimat durchfeuchtet. Nach dem Aufspannen des Tieres werden alle Körperteile mit Ausnahme des Halses mit reinen Tüchern bedeckt. Darnach in einem entfernten Zimmer Blntentnahme (ca. 0,5 ccm) aus der rechten Jugularis durch sterile Kanüle, die mit sterilem Gummischlauch verbunden ist. Letzterer wird durch den Wattestopfen der beiden Bouillonröhrchen geführt, sodafs diese nicht geöffnet zu werden branchen. Die frei präparierte Jugularis war vor der Eröffnung mit Sublimat abgespült, die verwendeten Instrumente und Seidenfäden sind steril. Resultat: Beide Bouillonröhrchen enthalten Prod.

2. Säugendes Kaninchen, gelb II, 10 Tage alt, 102 g; säuft sofort nach Entnahme aus dem Nest aus Puppensaugflasche ca. 2 ccm abgekochte Milch, die den dünnen Belag eines 16 Stunden bei 27° gehaltenen Prodigiosus-Kartoffelröhrchens suspendiert enthält. Die Prodigiosusmasse ist gleichmäfsig auseinander geschüttelt, das Gummisaughütchen ist mit feinster Öffnung versehen, so dafs eine Propagierung von Prod. nicht erfolgen kann. Nach 1 Stunde Tötung durch Nackenschlag. Abhalgen etc. wie oben beschrieben. Von Blut und Organen werden 32 Bouillonröhrchen geimpft. Mesenterialdrüsen werden nicht gefunden. Vom Darminhalt bis 10 cm hinter Coecum mit je 1 Öse Agarplatten. Resultat: Lunge, Herzblut, Niere, Leber enthalten Prod., desgleichen sämtliche Platten vom Darminhalt.

3. Säugendes Kaninchen, weifs I, $3^1/_2$ Wochen, 365 g, wird 2 Stunden lang vor der Fütterung von der Mutter abgesetzt. Erhält pro Saugflasche 4 ccm Milchwasser mit 4 Ösen Prodigiosusagarkultur (1 Tag, 27°). Nach 2 Stunden stranguliert etc. Geimpft werden im ganzen 29 Röhrchen und 4 Kolben. Resultat: 1 Röhrchen Herzblut, 2 mit Leber, 2 mit Milz, 1 mit Mesenterialdrüsen, 1 mit Lunge enthalten Prod., desgleichen alle Darmplatten.

4. Säugendes Kaninchen, grau, ca. 14 Tage alt, 185 g; erhält sofort nach Entnahme aus dem Nest 5 ccm Milch mit 5 Ösen Prod. (Agar, 1 Tag, 27°). Nach $^3/_4$ Stunden stranguliert. Resultat: Milz, Leber, Mesenterialdrüsen enthalten Prod., Darminhalt bis 5 cm hinter Coecum desgl.

5. Säugendes Kaninchen, weifs II, ca. 14 Tage alt, 170 g; erhält sofort nach Entnahme aus Nest 4 Ösen Roten Kieler (1 Tag, 27°, Agar) in ca. 3 ccm Milch. Nach $^3/_4$ Stunden Nackenschlag. Resultat: Leber, Herzblut, Lunge enthalten Roten Kieler, desgl. Darminhalt bis 6—7 cm hinter Coecum.

6. Kaninchen, schwarz, 575 g, 4 Wochen alt; erhält als Futter Kohlrabi mit 1 Agarbelag (Petrischale, 16 Stunden, 27°) Roten Kieler. Nach 2 Stunden stranguliert. Resultat: Leber, Mesenterialdrüsen, Blut, Lunge enhalten Prod.

7. Kaninchen, schwarz, ca. 4 Wochen alt, 560 g; erhält 8 Ösen Prodigiosus-Agarkultur (1 Tag, 27°) zwischen Kohlrabischeiben. Frifst reichliche Hälfte. Nach 2 Stunden stranguliert. Resultat: Weder in Blut noch in Organen Prod. Darminhalt enthält überall Prod., aber nur vereinzelt.

8. Säugendes Kaninchen, gescheckt, 10 Tage alt, 150 g; erhält 3 ccm Leitungswasser mit 3 Ösen Roten Kieler (20 Stunden, 27°). Nach $1^1/_2$ Stunden stranguliert. Leber, Herzblut, Lunge enthalten Roten Kieler, desgl. Darminhalt bis Coecum.

9. Säugendes Kaninchen, weifs III, 11 Tage, 172 g; erhält 3 ccm Milch mit 3 Ösen Roten Kieler. Nach $1^1/_2$ Stunden stranguliert. Leber, Milz, rechte Niere, Mesenterialdrüsen, Herzblut, Lunge enthalten Roten Kieler. 1 Mesenterialdrüse enthält aufserdem Bact. coli.

10. Kaninchen, grau, ca. 3 Wochen, 370 g, erhält 5 ccm einer Hefesuspension (1 Petrischale Würzagar, 18 Stunden, 27°, Stamm 696). Nach $1^1/_2$ Stunden

Entblutung von Jugularis. Verimpfung auf Bierwürze, die bei 27° gehalten wird, davon nach 2 und 8 Tagen Ausstriche auf Würzagar. Resultat: Alle Kulturen sind frei von Hefe, mit Ausnahme eines Lungenröhrchens. Die aus diesem isolierte Hefe wird als Stamm 696 mittels vorrätigen spezifischen Kaninchenimmunserum identifiziert.

11. Kaninchen, weifs IV, ca. 4 Wochen alt, nicht gewogen; erhält 12 ccm Milchwasser, in dem Belag von 2 Würzagarplatten Hefe 696 suspendiert sind. Nach 3 Stunden stranguliert. Resultat: Blut und alle Organe sind frei von Hefe.
12. Katze, schwarz, ca. 5 Wochen alt, 460 g; erhält 1/2 Prodigiosus-Agarplatte (kleine Petrischale) mit Pferdehackfleisch. Nach 3 Stunden stranguliert. Resultat: Leber und Lunge enthalten Prod.
13. Säugende Katze, grau, 4 Tage alt; erhält mit Saugflasche 4 ccm Milch mit 4 Ösen Prodigiosus-Agarkultur (1 Tag 27°). Nach 1½ Stunden stranguliert. Leber, Milz, Mesenterialdrüsen, Herzblut enthalten Prod.
14. Katze, schwarzrot, 8 Wochen, 775 g; erhält 2/3 Prodigiosus-Agarplatte (Petrischale) mit Pferdehackfleisch. Nach 3 Stunden stranguliert. Resultat: In Organen und Blut kein Prod., im Darminhalt überall, aber vereinzelt.
15. Säugender Hund, 2 Wochen alt, 520 g; erhält 2/3 Petriplatte Prodigiosus-Agarkultur (1 Tag 27°) mit 12 ccm Milch. Nach 2½ Stunden stranguliert. Resultat: Milz, Mesenterialdrüsen, Leber, Herzblut enthalten Prod.
16. Säugender Hund, 5 Tage alt, 115 g; erhält 4 ccm Milch mit 5 Ösen Prod. Nach 2 Stunden stranguliert. Leber, Mesenterialdrüsen, Blut, Lunge enthalten Prod.

Während die Versuche an erwachsenen Tieren zu völlig eindeutigen Ergebnissen nicht geführt haben, schliefsen sich die Untersuchungen an säugenden Tieren zu einem einheitlichen Ganzen zusammen: bringt man säugenden Kaninchen, Hunden oder Katzen Suspensionen von Prodigiosus oder Rotem Kieler per os bei, so sind die verabreichten Keime innerhalb der Verdauungszeit in Organen oder im Blut nachzuweisen.

Bei Kaninchen konnte in einem Falle schon 1 Stunde nach der Verfütterung Prodigiosus in Leber, Niere, Herzblut gefunden werden, bei drei anderen war er nach 5/4 Stunden, bei zwei anderen nach 1½ Stunden in Organen anzutreffen: es sind dies Zeiten, innerhalb deren wir es mit einer Infektion nicht zu tun haben. Ob es sich um eine aktive Einwanderung der beweglichen Keime oder um eine Resorption handelt

können die angeführten Versuche nicht entscheiden. Zur Beantwortung dieser Frage wählte ich eine unbewegliche Mikroorganismenart, den Hefestamm 696, der in der Institutsluft nicht vorkommt und mit Hilfe eines gut agglutinierenden spezifischen Serums leicht identifiziert werden konnte. Die verabreichte Hefe konnte aber nirgends in den Organen oder im Blut der Kaninchen wiedergefunden werden. Es ist demnach entweder eine bestimmte Gröfse oder Kleinheit Vorbedingung für ein Durchtreten von Mikroorganismen, oder es war hier die Unbeweglichkeit der Grund des negativen Resultats. Darnach wählte ich zu Fütterungsversuchen die Blindschleichentuberkelbazillen, die eine Pathogenität für Kaninchen und Meerschweinchen nicht besitzen. Über das Resultat dieser Verfütterungen wird im Zusammenhange mit anderen Fragen berichtet werden, hier sei erwähnt, dafs auch die unbeweglichen Blindschleichentuberkelbazillen $2^1/_2$ Stunden nach Einverleibung per os im Innern der Darmzotten zu finden sind. Von einer Einwanderung kann hierebensowenig die Rede sein wie von einem Durchwachsen. Es ist mir zwar gelungen, den Blindschleichentuberkelbazillus — entgegen der in der Literatur vorhandenen Angaben, wonach er bei höheren Temperaturen als 22—25° nicht wächst — auch bei 37° zum Wachstum zu bringen, dasselbe erfolgt aber selbst auf den günstigsten Nährböden sehr langsam, es erscheint völlig ausgeschlossen, dafs der Keim im Kaninchendarm während der Zeit von $2^1/_2$ Stunden zur Vermehrung gekommen sei.

Die Frage, wo beim Kaninchen eine Keimaufnahme erfolgen kann, habe ich durch folgende Versuche zu fördern gesucht. Zunächst wurde wieder der Kulturnachweis benutzt.

1. Einem grofsen gelben Kaninchen, 2230 g, wird der Magen unterbunden [1]), dann wird dem Tier, nachdem es $^1/_2$ Stunde geruht, mit weichem Schlundrohr 25 ccm Prodigiosussuspension (Belag einer halben grofsen Agarschale, 1 Tag 27°) beigebracht. Nach $1^3/_4$ Stunden Tötung durch Chloroform, Abbalgen etc. wie oben. Resultat: Alle Kulturgläser von Blut und Organen sind frei von Prod.

1) Herrn Dr. Peters, der mir bei diesem und mehreren der folgenden Versuche wertvolle Hilfe leistete, sage ich hierfür besten Dank.

2. Derselbe Versuch, gelbes Kaninchen, 1980 g; Einverleibnng von 35 ccm einer Snspension von 2 grofsen Agarschalen Prod. Tötung durch Strangulation nach $2^1/_2$ Stnnden. Resultat: Alle Knlturgläser sind frei von Prod.
3. Bei einem gelben, 2,1 kg schweren Kaninchen wird eine ca. 50 cm lange Dünndarmschlinge freigelegt und zwischen 37° warmen Kochsalzkompressen gehalten. Am oralen, 12 cm vom Pylorus entfernten Ende wird zunächst eine einfache Ligatnr angebracht, nnterhalb welcher ein mit völlig glatten Rändern versehenes T-Rohr mit dem etwas verjüngten Ende in die Dünndarmschlinge eingeführt wird. Das untere Ende der Darmschlinge — das, wie die Sektion ergab, ca. 70 cm vom Coecum entfernt lag — wird doppelt nnterbunden. Der rechtwinklig abzweigende Schenkel des T-Rohres wird mit einem ca. 50 cm langen, nach aufwärts an einem Stativ befestigten Gummischlauch, der andere freie Schenkel mit einem mit Quetschhahn versehenen und am Auslaufrohr einer Bürette befestigten Gummischlauch verbunden. In der Bürette befindet sich eine Suspension von Prod. (1 gr Agarschale, 1 Tag 27° in 40 ccm Wasser). Im Verlauf einer halben Stunde liefs ich im ganzen 12 ccm in Zwischenräumen von 5—10 Minuten in die Dünndarmschlinge einlaufen, die während des Einlaufens zwischen frisch gewärmten Kompressen ausgebreitet lag, dann aber sofort reponiert wurde. Klemmpinzetten verschlossen die Abdomenöffnung so weit, dafs gerade nnr das T-Rohr heransragte. 1 Stnnde nach letztmaliger Eingabe und Reposition erfolgte Blntentnahme aus der rechten, nach weiteren $1^1/_2$ Stunden aus der linken Jugnlaris. Insgesamt wurden ca. 15 ccm Blut entnommen und anf ca. 50 Bouillonröhrchen verteilt. Nach einer weiteren Stunde Tötung durch Chloroform. Verteilung der Organe und des Blutes auf 40 Röhrchen und 24 Kolben. Resultat: In keinem Kulturglas war Prod. nachzuweisen.
4. Derselbe Versuch wie 3. Kaninchen, grau, 1980 g; Dünndarmschlinge 39 cm lang, orales Ende 5 cm vom Pylorus entfernt. Eingegeben werden innerhalb von 15 Minuten 4 ccm einer Snspension von 1 g Agarschale Prod. in 10 ccm Kochsalzlösung. Nach 2 Stunden Entblutung aus der rechten Karotis. Verteilung von Blut und Organen auf zahlreiche Kultnrgläser. Resultat: 2 Leberröhrchen, 1 Lungenkölbchen enthalten Prod.
5. Kaninchen, gelb, $3^1/_2$ Wochen alt, 405 g Abgebunden wird ein 30 cm langes Dünndarmstück, orales Ende 4,5 cm vom Pylorus, unteres Ende 120 cm vom Coecum entfernt. Von der Prodigiosnssuspension (1 Agarröhrchen 1 Tag 27° in 30 ccm Kochsalzlösnng) werden im Laufe von $^1/_4$ Stunde $4^1/_2$ ccm in die Dünndarmschlinge eingegeben. $1^1/_4$ Stunden nach der letzten Prodigiosuseingabe wird das Tier durch Chloroform getötet. Resnltat: 1 Röhrchen mit Leber, 2 mit Blnt, 1 mit Lunge enthalten Prod. 12 Röhrchen mit Blut, 1 mit Lunge, 10 mit Leber, 2 Kolben mit Niere, 4 mit Leber enthalten keinen Prod.
6. Derselbe Versuch an schwarzgrauem Kaninchen, 535 g, Alter unbekannt. Darmschlinge 29 cm lang, orales Ende 4 cm vom Magen entfernt, Ein-

gabe von 3 ccm derselben Suspension wie bei Kaninchen 5 innerhalb von 10 Minuten. 1½ Stunden nach letzter Eingabe Tötung durch Chloroform. Resultat: Prod. enthalten 2 Röhrchen mit Blut, 2 mit Leber, 2 mit Mesenterialdrüsen. Frei von Prod. sind 4 Röhrchen bzw. Kolben mit Blut, 14 mit Leber, 2 mit Lunge, 2 mit Niere, 1 mit Milz.

7. Derselbe Versuch, gelbes Kaninchen von demselben Wurf wie Kaninchen 5, ca. 4 Wochen alt, 490 g. Dünndarmschlinge 27 cm lang, orales Ende 4,5 cm vom Pylorus entfernt. Eingabe von 4,3 ccm auf 37° C vorgewärmter Aufschwemmung von Rotem Kieler (1 Agarröhrchen 1 Tag 27°) auf 15 ccm Kochsalzlösung. 1½ Stunden nach letzter Eingabe entblutet aus rechter Karotis. Resultat: 5 Leber- und 1 Blutröhrchen enthalten Roten Kieler, 24 Röhrchen mit Blut, 12 mit Leber, 1 Kolben mit Milz, 4 mit Nieren, 19 mit Leber sind frei von Rotem Kieler.

Die Versuche zeigen, dafs im Magen erwachsener Kaninchen selbst bei grofsen Mengen eingeführter Prodigiosuskeime eine Resorption nicht erfolgt bzw. durch Kulturverfahren nicht nachgewiesen werden konnte. Hingegen scheint beim erwachsenen Kaninchen zuweilen, bei jungen 4—500 g schweren Kaninchen immer in den oberen Dünndarmpartien eine solche erfolgen zu können, womit nicht gesagt sein soll, dafs sie nicht auch an anderen Stellen des Verdauungsrohres stattfinden kann.

Als völlig einwandsfrei kann man freilich die durch das geschilderte Verfahren erhaltenen positiven Ergebnisse nicht ansehen: Das an beiden Enden der Darmschlinge erfolgende Abbinden, selbst wenn es, wie hier, mit weichem Wollfaden geschieht, sowie der am oberen Ende anzubringende Einschnitt könnten dem Eindringen von Bakterien Vorschub leisten. Dabei kommt das orale Ende vielleicht weniger in Betracht, da das T-Rohr ca. 3 cm weit in das Darmlumen hineinragte und die eingegebenen Bakterien mit der oberen Schnür- resp. Eröffnungsstelle nicht notwendig in Berührung zu kommen brauchen, wenigstens konnte bei dem letzten Kaninchen auf einem Abstrich von der Schleimhaut dieses obersten Endes der Schlinge der verabreichte Keim nicht nachgewiesen werden. Es könnte aber an dem unteren Schnürring infolge Epithelverletzung ein Übertreten von Keimen erfolgt sein. Es wurde daher für das weitere Studium der Frage die Herstellung von Schnittpräparaten gewählt. Da, wie oben ausgeführt, es wünschenswert erschien,

zu prüfen, ob auch unbewegliche Bakterienarten nach Verabreichung per os in der Darmwand oder in Organen wiederzufinden seien, da ferner die gewöhnlichen Bakterienarten im Schnitt oft nicht leicht zu differenzieren sind, so wurde ein Bazillus aus der Gruppe der säurefesten, und zwar der unbewegliche Blindschleichentuberkelbazillus gewählt, dessen Nachweis in der Darmwand oder in den Organen unschwer ist.

1. Kaninchen, grau, 6 Tage alt, 97 g; erhält auf die Zunge in kleinen Tropfen aus Tropfpipette ca. $1^1/_2$ ccm einer Aufschwemmung von 2 Blindschleichentuberkulose-Agarkulturen (14 Tage, 27°) in 50 ccm Kochsalzlösung. Nach $2^1/_2$ Stunden wird das Tier durch Schlag getötet, der Magendarmkanal herausgenommen, möglichst schnell in 1 cm lange Stücke zerschnitten und in 6 proz. Formaldehydlösung gelegt. Dasselbe geschah mit den Organen. Ein 30 Minuten später aus der Formaldehydlösung herausgenommenes Darmstück wurde mittels steriler Schere weitgehend zerkleinert und in Anreicherungs-Bonillonröhrchen verteilt. Die bei 27° gehaltenen Röhrchen blieben steril, durch die Formaldehydlösung waren also die im Darminhalt befindlichen Tuberkelbazillen vermehrungsunfähig gemacht, so dafs ein nachträgliches Durchwachsen nicht möglich war.
2. Meerschweinchen, 75 g schwer, 3 Tage alt; erhält auf gleiche Weise knapp 1 ccm der gleichen Suspension. Nach $2^1/_2$ Stunden Tötung durch Nackenschlag. Weiteres wie oben.

Die Untersuchungen an den hergestellten Schnitten, über die später ausführlicher zu berichten sein wird, ergeben, dafs bei beiden Tieren eine Aufnahme der eingegebenen Keime nicht nur im Magen, sondern in der ganzen Länge des Darmkanals bis zum Coecum erfolgt ist. Besondere Prädilektionsstellen konnten bis jetzt noch nicht gefunden werden. Ob, wie v. Behring[1]) glaubt, das bakterienreiche Coecum eine solche Prädilektionsstelle abgibt, erscheint mir sehr zweifelhaft: einmal ergeben meine bisherigen mikroskopischen Untersuchungen keine Anhaltspunkte hierfür und sodann hätte ich, wenn diese Anschauung richtig wäre, in den Mesenterialdrüsen oder im Blut oder in den Organen säugender Tiere viel häufiger Coecum-Keime (Bact. coli, Proteus etc.) auffinden müssen. Vielmehr müfste man beim Aufsuchen von Prädilektionsstellen für den Keimdurchtritt vielleicht gerade auf solche Darmpartien das Augenmerk richten,

1) a. a. O.

in denen für gewöhnlich nicht eine solche Unsumme von Keimen wie im Coecum vorhanden ist. Doch diese Fragen sind ja der experimentellen Prüfung zugänglich. Jedenfalls halte ich diese Methode der Einverleibung unbeweglicher, leicht erkennbarer säurefester Bazillen für recht geeignet, die Vorgänge bei der Resorption kleinster korpuskulärer Elemente zu studieren und möchte glauben, dafs sie in der Hand von Anatomen und Physiologen wertvolle Aufschlüsse geben könnte. Dasselbe gilt natürlich auch von der Methode des Einverleibens von kulturell nachzuweisenden Bakterien, es sind aber, wie betont werden mufs, bei Untersuchungen letzterer Art so viele Versuchsfehler möglich, dafs man einen Anfänger nicht genug davor warnen kann.

Wenn somit schon Saprophyten, und selbst unbewegliche, aus dem Darmkanal säugender Tiere in den Blutkreislauf und in Organe gelangen können, so müssen dieselben Pforten auch pathogenen Keimen offen stehen. Es ist vielleicht aber gar nicht einmal nötig, dafs für säugende Tiere den pathogenen Bakterien günstigere Chancen, die Darmschleimhaut durchsetzen zu können, zuerkannt werden. Wenn es bei dem erwachsenen Tier sicherlich zumeist von ausschlaggebender Bedeutung sein mufs, dafs an Darmepithelzellen angelehnte Keime ein Stoffwechselprodukt erzeugen, welches ihnen durch Zellschädigung den Weg bahnt, und dafs diese Parasiten infolge ihrer Vermehrungsfähigkeit das Mittel der Summation der gewebsschädigenden Wirkung in der Hand haben oder gar dafs sie durchzuwachsen vermögen, so braucht vielleicht beim säugenden oder jungen Tier ein Unterschied zwischen Infektionserreger und Saprophyten hinsichtlich der Aufnahme gar nicht vorhanden zu sein: die Aufnahme saprophytischer, unbeweglicher Bakterien spricht vielmehr dafür, dafs hier eine Resorption vorliegt, eine Aufnahme im wahren Sinne des Wortes, wobei der Keim selbst der passive Teil ist. Das kann doch nur dann geschehen, wenn entweder die jugendlichen Zellen eine amöboide Fangfähigkeit besitzen oder wenn während der Verdauung eine Saugkraft die der Darminnenfläche angelagerten Keime in die Zellen oder Zellinterstitien hineinzieht. Amöboide Fähigkeiten sind für Darmzellen bewiesen von Sommer

bei Distomum hepaticum, von Metschnikoff bei Cölenteraten, von Du Plessis bei Turbellarien, von Greenwoord beim Regenwurm. Wenn diese Fähigkeit hier nicht in Betracht kommt, so wird es doch als diskutierbar erscheinen müssen, ob nicht in dem zu intensivster Resorptionstätigkeit bestellten jugendlichen Magendarmkanal eine Saugkraft entfaltet wird, die stärker als beim Erwachsenen ist, oder die wenigstens so stark wirkt, dafs in die zarteren, weniger widerstandsfähigeren Zellen oder in die, hier vielleicht weiteren Zellzwischenräume kleinste korpuskuläre Elemente gelangen. Warum diese Eigentümlichkeit der infantilen Verdauungswege mit der Zeit schwindet, bei einzelnen Tiergattungen aber auch au erwachseneu Individuen noch erhalten zu sein scheint, entzieht sich vorläufig ebenfalls völlig unserer Beurteilung.

In der Verallgemeinerung der am Tier gewonnenen Resultate kann man nicht bescheiden genug sein. Es soll hier nicht ausgeführt werden, ob und warum wir auch für deu Menschen ähnliche Verhältnisse annehmen dürfen. Es soll nur noch hervorgehoben werden, dafs mit diesen Versuchen auch eiuige Beobachtungeu am Menschendarm in Einklang stehen. Orth[1]) hat darauf aufmerksam gemacht, dafs »Tuberkelbazillen von den Schleimhäuten aufgenommen werden, ohne örtliche Tuberkulose zu machen«. Auch der Tuberkelbazillus beim Warmblüter ist ohne Eigenbewegung, eine irgendwie erhebliche aggressive Fähigkeit gegenüber Darmepithelien kaun er kaum besitzen — man denke nur an die grofsen Quantitäten von Tuberkelbazillen, die der Phthisiker herunterschluckt —, zudem müfsten doch im Falle des Durchwachsens durch die Darmschleimhaut an der Penetrationsstelle in Analogie mit der Beschaffenheit andrer Vegetationsstellen wahrnehmbare Veränderungen zurückgelassen werden. So könnte man sich vielmehr vorstellen, dafs auch in solchen Fällen der Bazillus selbst bei der Passage nur inaktiv beteiligt war, eine Annahme, zu der auch v. Baumgarten und Krebl[2]) hinneigen; die gleiche Vorstellung scheint auch C. Weigert[3])

1) Virchows Archiv, Bd. 76; Berliner klin. Wochenschr., 1904, S. 266.
2) Pathologische Physiologie III. Aufl. 1904, S. 214 etc.
3) Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 41.

gehabt zu haben, als er schrieb: »— man möchte demnach meinen, dafs das Tuberkelgift bei Kindern viel leichter in die Eintrittspforten der Lymphgefäfse in den hier in Betracht kommenden Schleimhäuten eindringt, d. h. leichter resorbiert wird, so dafs es auf den letzteren gar nicht erst liegen bleibt, bis es bei seiner ja so langsamen Vermehrung seine Wirkungen üben könnte —«.

Nach diesen Untersuchungen über die Bakteriendurchlässigkeit des Magendarmtraktus neugeborener bzw. jugendlicher Individuen mufs die Lehre der Keimdichte der normalen Darmschleimhaut eine weitere Einschränkung erfahren. Wenn es das Verdienst Carl Weigerts ist, zum ersten Male die Aufmerksamkeit auf die Durchgängigkeit des Intestinalapparates sehr jugendlicher Kinder gelenkt zu haben, so ist es doch erst v. Behring gewesen, der mit Nachdruck auf diese Stelle der geringeren Widerstandskraft hingewiesen hat. Ob freilich dies Moment für die Frage der Tuberkuloseentstehung von besonderer Bedeutung ist, darüber geben meine Versuche keinen Aufschlufs. Wenn man die Tuberkulose aber einmal ganz aus dem Spiele läfst, so kann man doch schon mit Hinblick auf zahlreiche andere intestinale Infektionen des Säuglingsalters an den vorliegenden Resultaten nicht gleichgültig vorübergehen, auch wenn sie, wie ich gern zugebe, noch lückenhaft sind und mehr Fragen aufwerfen, als sie zu beantworten vermögen.

Untersuchungen über die Lebensdauer von Typhusbazillen im Aquariumwasser.

Von

Dr. **W. Hoffmann,**
Stabsarzt und Assistent des Instituts.

(Aus den Hygienischen Instituten der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Über das Vorkommen von Typhusbazillen und ihre Lebensdauer im Wasser existieren eine gröfsere Anzahl von Mitteilungen, welche im Kolle-Wassermann[1]) und in den Arbeiten von Bonhoff[2]) und Tavel[3]) zusammengestellt und kritisch beleuchtet worden sind, so dafs ich hier nicht näher darauf einzugehen brauche. Es sind dies teils Arbeiten, die durch Laboratoriumsversuche der epidemiologisch so wichtigen Frage des Verhaltens der Typhuskeime in verschiedenen Wassersorten nähertreten, teils bringen sie, wie im besonderen Tavel, Resultate, die durch Untersuchungen von typhusverdächtigem Trinkwasser in der Praxis erhoben worden sind.

Bonhoff und Tavel empfehlen, — letzterer auf Grund eines positiven Resultates — den Bodenschlamm zu Untersuchungen auf Typhusbazillen heranzuziehen, was übrigens schon weit früher von Karlinski gelegentlich seiner Experimente über

1) Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 2.

2) »Wasseruntersuchung und Typhusbazillus.« Centralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig.-Bd. 33, S. 461.

3) »Zur Epidemiologie des Typhus abdominalis.« Centralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig.-Bd. 33, S. 166.

die Lebensfähigkeit von Typhusbazillen in Brunnen geschehen ist. War doch auch die äufserst geringe Zahl tatsächlichen Nachweises eines legitimen Typhusbazillus im Leitungs-, Brunnen- oder Flufswasser im Verhältnis zu der überaus grofsen Menge von negativen Resultaten geradezu entmutigend, besonders in den Fällen, wo eine Verunreinigung eines Wassers mit Abgängen eines Typhuskranken ebenso mit Sicherheit sich nachweisen liefs, wie die grofse Wahrscheinlichkeit, dafs durch den Genufs dieses infizierten Wassers neue Erkrankungen an Typhus eingetreten waren. Häufig genug konnte eben für die Typhusentstehungsursache der indirekte Beweis geliefert werden, während der direkte durch das tatsächliche Auffinden des Typhuserregers zu den gröfsten Seltenheiten zählte, ja förmlich ein Glückszufall war.

Es ist einleuchtend, dafs das Ergebnis solch praktischer Untersuchungen auf Typhusbazillen in erster Linie mit abhängig ist von der Untersuchungsmethode und ihrer Leistungsfähigkeit; ebenso ist bekannt, dafs alle Autoren bei diesen ätiologischen Untersuchungen bestrebt waren, die lästigen Begleitbakterien durch sie in der Entwicklung hemmende Mittel zurückzudrängen, während der gesuchte Typhuskeim dadurch nicht ungünstig beeinflufst werden durfte.

In diesem Sinne wirksame Substanzen gibt es bis jetzt zwei, das Koffein und das Malachitgrün, von welchen sich aber das letztere als Zusatz zu flüssigen Medien nach bisherigen Untersuchungen nicht zu eignen scheint.

Betreffs des Koffeins wurde von Ficker und mir nachgewiesen, dafs es sich als Zusatz zu Flüssigkeiten, um Begleitbakterien zurückzuhalten, ohne Typhusbazillen zu schädigen, verwenden läfst, und ist auf dieser Grundlage eine Untersuchungsmethode für Typhusfäces von Ficker und eine solche für typhusverdächtiges Wasser von mir ausgearbeitet und veröffentlicht worden.[1])

---

1) a) Hoffmann-Ficker, »Über neue Methoden des Nachweises von Typhusbazillen.« Hygien. Rundschau, 1904, Nr. 1, S. 1.

b) Ficker-Hoffmann, »Weiteres über den Nachweis von Typhusbazillen.« Archiv f. Hygiene, Bd. 49, S. 229.

Diese Methoden wurden auch in der Praxis mit Erfolg angewandt, und fällen v. Jacksch und Rau[1]), welche während einer ausgedehnten Typhusepidemie in Prag das angeschuldigte Leitungs- und Moldauwasser auf Typhusbazillen untersuchten, folgendes Urteil:

»Zahlreiche, in früheren Jahren in meiner Klinik mit anderen Methoden ausgeführte Versuche, die bakteriologische Fauna des Prager Leitungswassers zu studieren oder gar Typhusbazillen aus dem Wasser zu isolieren, scheiterten an dem Umstande, dafs zu wenig der so zahlreichen Keime durch diese Metboden unterdrückt wurden. Da nach unseren Versuchen mittels Vorgehens von Hoffmann und Ficker fast alle anderen Bakterien zurückgedrängt wurden, während nur der Bacillus pyocyaneus und wohl auch Koliarten, wie das Erscheinen der den Nährboden von v. Drigalski-Conradi rotfärbenden Kulturen beweist, ferner vielleicht spärlich Proteusarten sich entwickelten, so bedeutet dieses Vorgehen einen wesentlichen Fortschritt für die Untersuchung typhusverdächtiger Wässer. Auch der Umstand, dafs drei Versuche positiv, drei negativ ausfielen, spricht für die Güte der Methode.

Ob vielleicht noch bessere Resultate zu erreichen wären durch den Nachweis von Typhusbazillen im Wasser durch Fällung mit Eisensulfat nach Ficker, dies noch zu prüfen hatten wir keine Veranlassung, da unsere Versuche I, III, IV mit der Methode Hoffmann-Ficker ganz eindeutig positiv ausfielen. Doch soll auf dieses Vorgehen bei ferneren systematischen Untersuchungen des Prager Wassers, welche jetzt nicht mehr ausbleiben können, aufmerksam gemacht werden.«

Es ist also den beiden Autoren gelungen, an drei verschiedenen Stellen im Leitungs- und Flufswasser von Prag Typhusbazillen zu finden, welche in jeder Beziehung als echte Eberth-sche Bazillen sich herausstellten.

Ich möchte aber der Überzeugung Ausdruck geben, dafs vielleicht in einem noch höheren Prozentsatz als 50% Typhus-

1) Centralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig.-Bd. 36, S. 584.

bazillen gefunden worden wären, wenn die Untersuchung der Anreicherungsflüssigkeit statt des einfachen Ausstreichens einiger Ösen auf Lackmus-Nutrose-Agar durch Fällung mit Typhusimmunserum oder mit Eisensulfat, wie empfohlen, vorgenommen worden wäre.

Ferner sei wegen der Brauchbarkeit des Koffeins zu Typhusuntersuchungen auf die inhaltsreiche Arbeit von Klinger[1]) »Über neuere Methoden zum Nachweise des Typhusbazillus in den Darmentleerungen« und auf die Mitteilung von Kloumann[2]) verwiesen, der in, wie ausdrücklich hervorgehoben wird, nur wenigen Versuchen fand, dafs die Anreicherung mit Koffein nur eine »relative« sei. »Letztere gelingt aber zweifelsohne, so dafs, wenn auch die Methode keine in jeder Hinsicht ideale ist, doch die Anwendung des Koffeins in Verbindung mit den farbigen Nährböden, einen weiteren Fortschritt in der Typhusdiagnose bedeutet.«

Es war hiernach von Interesse, das Verhalten der Typhusbazillen bei künstlicher Einsaat in Wasser durch systematische Untersuchungen festzustellen, da man hoffen konnte, mit der neuen Methode sichere Resultate über die Biologie des Typhuserregers im Wasser zu erhalten.

Ich erhielt von meinem hochverehrten Chef, Herrn Geheimen Medizinalrat Prof. Dr. Rubner, hierzu die Anregung, und spreche ihm auch für das andauernde Interesse, das er den weiteren Untersuchungen entgegenbrachte, meinen Dank aus.

Früher (1895) hatte schon Wernicke auf Veranlassung von Rubner derartige Untersuchungen »Über die Persistenz der Choleravibrionen im Wasser«[3]) durchgeführt und war mir seine Versuchsanordnung in mancher Beziehung vorbildlich.

---

1) Inaug.-Dissertation, 1904, Strafsburg.

Typhusbazillennachweis mit Drig.-Conr. in 32,1 %
» » Endo — 42,9 %
» » Koffein — 58,9 %.

2) Centralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Orig.-Bd. 36, S. 312.

3) Hygien. Rundschau, 1895, S. 136.

Von vornherein war die Absicht vorherrschend, den Versuch so zu gestalten, dafs er möglichst den natürlichen Verhältnissen entsprach.

Es wurde am 9. Mai 1904 in ein gröfseres Aquarium, zirka 7 cm hoch, eine Schicht von Kies und Pflanzenerde gebracht, die mit einigen Wasserpflanzen bepflanzt wurden. Darauf wurden 30 l Leitungswasser hineingegossen, vier Schnecken und sieben Fischchen hineingesetzt und in den Boden ein Thermometer eingebohrt. Die 4—5 unteren cm des Wasserstandes wurden durch eine aufsen um das Aquarium verlaufende schwarze, ziemlich dicke Papierwand etwas dunkel gehalten, um einigermafsen die Einwirkung der Ufer- bzw. Brunnenwände nachzuahmen, das Aquarium im übrigen in der Nähe des Fensters so aufgestellt, dafs es nicht nur von indirektem Licht, sondern nachmittags einige Stunden von direktem Sonnenlicht beleuchtet wurde. Die Höhe des Wasserspiegels wurde durch eine ringsum verlaufende Linie markiert und die — auch durch die Untersuchungen — verloren gegangene Wassermenge mit Leitungswasser mit sterilen Gefäfsen wieder nachgefüllt. Bis auf eine kleine Offnung war das Aquarium mit einer Glasplatte zugedeckt, um Verunreinigungen durch Staub möglichst zu vermeiden.

Die Keimzahl des Leitungswassers betrug am 9. Mai 1904 266 Keime pro 1 ccm — Gelatineplatte am vierten Tag gezählt.

Die Keimzahl des Aquariumwassers wurde erst am 10. Mai bestimmt, da am 9. Mai durch das — wenn auch vorsichtige — Eingiefsen korpuskuläre Trübungen im Wasser sichtbar waren; sie betrug — Gelatineplatte am dritten Tag gezählt — pro 1 ccm 59 590 Keime. Ebenfalls am 10. Mai wurde das Aquariumwasser mit einer Typhusreinkultur beschickt, indem drei stark gewachsene 24stündige, gut bewegliche Typhusbouillonkulturen — ohne ihren Bodensatz — in 500 ccm steriles Leitungswasser gegossen wurden. Der Kolben wurde gründlich durchgeschüttelt und nach einiger Zeit 1,0 ccm davon tropfenweise an verschiedenen Stellen in das Aquariumwasser gegeben. Gleichzeitig wurde die Keimzahl des Typhuskolbens durch mehrere verschiedene Verdünnungen auf Agar bei 37° bestimmt und für 1,0 ccm mit 10 092 500 000

im Durchschnitt festgestellt; hiernach kamen am 10. Mai 1904 336416 Typhuskeime pro 1 ccm Aquariumwasser mit 59590 Wasserkeimen. Es mufs noch hinzugefügt werden, dafs als Typhusstamm der Stamm »Niedlich« benutzt wurde, der bei der Prüfung der Koffeinanreicherung für Wasser als der günstigste unserer Typhuskulturen erkannt worden war.

Der erste Versuch, die Typhusbazillen wieder zu isolieren, wurde am 13. Mai angestellt, und zwar wurden von der Oberfläche des Wassers von verschiedenen Stellen vier Ösen auf drei Drigalski-Conradiplatten von 18 cm Durchmesser ausgestrichen. Auf den drei Platten befanden sich am 14. Mai zwei typhusverdächtige Kolonien, von denen die eine mit einem mittelwertigen Typhusserum (Titer 1 : 4000) in einer Verdünnung von 1:400 sofort agglutinierte, während die Agglutination bei der anderen zweifelhaft war und blieb. Auf schrägem Agar übertragen und am nächsten Tage der makroskopischen Agglutination im Reagensglas mit demselben Typhusserum in einer Verdünnung von 1 : 2000 unterworfen, trat alsbald die charakteristische Häufchenbildung mit beginnender Klärung der Flüssigkeit auf. Beide Kulturen wurden dann noch in Neutralrotagar (Schüttelkultur) geimpft und zeigten nach 24 Stunden weder Gasbildung noch Verfärbung des Farbstoffs. Nach diesen Prinzipien der Identifizierung wurde auch bei den folgenden Untersuchungen verfahren, der Sicherheit halber hie und da noch die Milchprobe angestellt oder eine Gelatineplatte gegossen. Es wird deshalb bei den folgenden Untersuchungen hierauf nicht weiter eingegangen werden.

Es war also bei dem ersten Versuch gelungen, mittels Ausstrichs Typhusbazillen zu isolieren; am 18. Mai wurde der Versuch in derselben Weise wiederholt und zwar mit negativem Resultat.

Deshalb wurde am 19. Mai zum ersten Male die Koffeinanreicherung herangezogen und zwar 45 ccm Wasser von der Oberfläche hierzu benutzt. Nach der Anreicherung wurde in einem Scheidetrichter flüssiges Typhusserum — bezogen von Tavel-Bern — hinzugefügt, so dafs eine Serumverdünnung

1 : 100 entstand. Nach weiteren drei Stunden Verweilen bei 37° übertrug ich nach kräftigem Schütteln in einer mit sterilen Glasperlen versehenen Tropfflasche das Untersuchungsmaterial wiederum auf drei grofse Platten, indem die α-Platte drei Tropfen und die β-Platte einen Tropfen erhielt. Am nächsten Tag trug ich in mein Protokollbuch ein: »grofse Zahl typhusverdächtiger Kolonien« (19).

Geprüft wurden davon fünf mit deutlicher positiver Agglutination; die weitere Untersuchung ergab, dafs es legitime Typhusbazillen waren.

Am 31. Mai Wiederholung. Gleichzeitig wurde versucht, nur mit der Fällung mit Typhusserum ohne Koffeinanreicherung zum Ziele zu kommen, aber ohne Erfolg. Auf den Anreicherungsplatten war nur eine verdächtige Kolonie, die sich auch als »Typhus« weiter bestätigte; weiter war aber auffallend, dafs die Keimzahl auf den drei Platten überhaupt geringer war als früher. Dadurch, dafs ich stets in derselben Weise mit dem Tropfglas drei Tropfen auf die α-, einen Tropfen auf die β-Platte brachte, beabsichtigte ich, nicht nur der Zahl der aufgegangenen Typhuskolonien, sondern der Kolonien überhaupt einen gewissen quantitativen Vergleichswert beizulegen.

Da mir die Zahl der Kolonien überhaupt geringer erschien als vorher, so empfahl mir Herr Geheimrat Rubner auf Grund seiner 1890 mitgeteilten Beobachtung des Sedimentierens der Wasserkeime[1]) von neuem eine Keimzählung des Aquariumwassers vorzunehmen. Dieselben hatten bedeutend abgenommen; sie betrugen 900 (Gelatine; 48 h). Die Keimzahl wurde nochmals am 11. Juli bestimmt und betrug da 1518; die anfängliche Zahl war also bedeutend zurückgegangen und scheint sich allmählich auf eine gewisse Konstante eingestellt zu haben.

Am 7. Juni wurde der fünfte Versuch angestellt und zwar mit dem doppelten Wasserquantum 90 ccm. Bei diesem Versuch waren drei verdächtige Kolonien auf der Platte, von denen zwei nicht, eine zweifelhaft agglutinierte. Die letztere wurde, da der Verdacht einer Mischkultur vorlag, nochmals über eine Platte

1) »Beitrag zur Lehre von den Wasserbakterien.« Archiv f. Hyg., Bd. 11.

geschickt, wo zwei differente Kolonien wuchsen, blaue, tautropfenähnliche, die agglutinierten und sich auch weiter als Typhus herausstellten, und rotviolette, die nicht Typhus waren.

Am 14. Juni starb ein Fisch, der schon mehrere Tage auf dem Boden auf der Seite gelegen hatte. Es gelang nicht, von seiner Oberfläche, den Kiemen, Darm und Schwimmblasen, von denen die eine bedeutend kleiner als die andere war, Typhuskeime zu isolieren.

Am 15. Juni trat der erste Mifserfolg ein, es waren zwar mehrere kleine zarte, blaue Kolonien vorhanden, die auch viele kulturelle Gleichheiten mit dem Eberthschen Bazillus teilten — aber nicht alle, — und auch nicht zur Agglutination zu bringen waren.

Am 21. Juni begann der siebente Versuch, der erste mit Untersuchung des Schlammes vom Boden des Aquariums. Es hatte sich im Laufe der Zeit eine deutliche Schlammschicht gebildet, in der der Kot der Schnecken und Fische sichtbar vorherrschte.

Ich benutzte wiederum zunächst 45 ccm. Um möglichst nur Wasser unmittelbar oberhalb des Bodens zu erhalten, ging ich mit einer sterilen Glasspritze, an der ich mit Gummi ein steriles Glasrohr befestigt hatte, in das Wasser, indem der vorher herausgezogene Stempel langsam eingedrückt und die Luft ausgedrückt wurde. Unten mit der Glasröhre angekommen, saugte ich über dem ganzen Boden Schlamm und Wasser in die Spritze auf und entleerte sie in einen sterilen Mefszylinder. Ich benutzte von jetzt ab vier grofse Platten. Das Ergebnis nach 24 Stunden war ein erstaunliches. Es war eine gröfsere Anzahl typhusverdächtiger Kolonien vorhauden, von deuen die meisten positive Agglutination ergaben und sich auch weiter als Typhusbazillen legitimierten. Aufserdem agglutinierten auch viele typhusverdächtige Kolonien nicht; ob bei ihnen bei späteren Generationen vielleicht Agglutinabilität eingetreten wäre, konnte ich nicht weiter verfolgen, da in erster Linie die wahre Natur der am stärksten typhusverdächtigen Kolonien mit Sicherheit ergründet werden mufste.

Auch der achte Versuch am 6. Juli hatte Erfolg, geprüft wurden elf Kolonien, von denen drei stärkere Beeinflussung erst später aber das tatsächliche Agglutinationsphänomen zeigten.

Der neunte Versuch am 18. Juli wurde mit 200 ccm Bodenschlamm angestellt und verlief resultatslos auch später auf Platten, die ich bei 22° auswachsen liefs, ausgehend von der Überlegung, dafs die eingesäten Typhusbazillen sich an diese Wassertemperatur vielleicht gewöhnt hätten. Anfang August untersuchte ich nochmals Bodenschlamm, nachdem das Wasser abgeflossen war, den ich in 200 ccm sterilen Leitungswassers aufschwemmte, ohne positives Resultat.

Typhusbazillen waren also noch nach ca. zwei Monaten im Aquarium nachgewiesen, vier Wochen im Wasser selbst und noch weitere vier Wochen im Schlamm.

Das Aquariumwasser hatte inzwischen eine starkgrüne Farbe angenommen und war einem Tümpel vergleichbar. Auf der Oberfläche lag eine fettige Haut, ein hängender Tropfen davon liefs neben Bakterien eine grofse Zahl verschiedenartigster Protozoen erkennen.

Dies ist im besonderen deshalb von Interesse, als Emmerich und Gemünd[1]) vor kurzem behaupteten, »dafs die rasche und massenhafte Vernichtung der Typhusbazillen im Wasser nicht durch Wasserbakterien, sondern durch Protozoen, insbesondere Flagellaten erfolgt«, weshalb sie — allerdings völlig isoliert — es für unmöglich erklären, dafs eine oft viele Monate dauernde Epidemie durch Brunnen oder eine Wasserleitung entstehen könnte, eine epidemiologische Tatsache, deren sicherer Beweiskraft wir uns nicht entziehen können.

Es ist durch das geschilderte Laboratoriumsexperiment bewiesen, dafs es uns leichter gelingen wird, Typhusbazillen aus einem verdächtigten Wasser zu isolieren, wenn wir unmittelbar den Bodenschlamm mit zur Untersuchung heranziehen. Wenn die Typhusinkubationszeit meistens in maximo

1) »Beiträge zur experimentellen Begründung der Pettenkoferschen Cholera- und Typhuslehre.« Münchner med. Wochenschr., 1904, Nr. 25 u. 26.

auch drei Wochen beträgt, so dafs man also erst nach ca. einem Monat die eventuellen Infektionsquellen überblickt, so kann man nach diesen Ergebnissen doch nicht mehr behaupten, dafs man mit den bakteriologischen Untersuchungen eines angeschuldigten Wassers allemal »zu spät komme«; im Wasser selbst werden sie nach dieser Zeit auch nur schwierig aufzufinden sein, dagegen wird bei der Untersuchung des Schlamms immerhin eine Aussicht auf Erfolg vorhanden sein.[1])

Ob die Verhältnisse für den Typhusbazillus im täglichen Leben besser oder schlechter liegen, wie hier im Aquariumversuch, ist schwer zu entscheiden. Was die Menge der Typhusbazillen in Beziehung zu den Wasserbakterien betrifft, so ist über diese wichtige quantitative Frage für die Stuhlentleerungen noch nichts Sicheres bekannt, dagegen weifs man, dafs mit dem Harn beträchtliche Mengen — 100 Millionen in 1 ccm — ausgeschieden werden können. Es sind also wohl Fälle denkbar, wo in der Praxis prozentualiter noch mehr Typhusbazillen den Wasserbakterien gegenüberstehen, wie in meinen Versuchen.

Für den Choleravibrio, dessen häufige Verbreitung durch Wasser sowohl epidemiologisch als bakteriologisch einwandsfrei schon längst feststeht, hat Wernicke bei seinen Versuchen gefunden, dafs sie sich im Wasser fast 3 Monate lang, im Bodenschlamm über 3 Monate aufhalten können.

Die längere Lebensdauer des Cholerakeims gegenüber dem Typhusbazillus mag in den biologischen Verschiedenheiten liegen, sie mag auch in der besseren Leistungsfähigkeit der Nachweismethoden begründet sein, und schliefslich wurden die Versuche in den Wintermonaten angestellt, wo die Einwirkung des Lichtes eine weniger intensive gewesen sein mufs wie bei meinen Versuchen im Sommer.

1) Bei dem Aufsuchen der Ankylostommularven im Wasser hat sich die Untersuchung auch auf den Grund der Flüssigkeiten zu erstrecken. Siehe Spitta, »Mitteilungen der Kgl. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung«, 1904, Heft 4, S. 182.

Beiträge zur Bekämpfung der Holzkrankheiten.

Von

Professor H. Chr. Nufsbaum, Hannover.

I. Ist es erforderlich, für das Holzwerk der Neubauten jahrelang abgelagertes Holz zu verwenden?

Eines der wichtigsten Mittel zur Bekämpfung der Holzkrankheiten wird gegenwärtig in der ausschliefslichen Verwendung lang abgelagerten Holzes gesehen. Robert Hartig[1]) hat dieser Ansicht seinerzeit Ausdruck gegeben und ihre allgemeine Befolgung warm befürwortet. Sie stöfst jedoch auf wirtschaftliche Schwierigkeiten, denn der Preis des Bauholzes wird durch jahrelanges Ablagern wesentlich erhöht, und es hält in Zeiten lebhafter Bautätigkeit schwer, abgelagertes Holz in ausreichender Menge zu beschaffen. Aus diesem Grunde bin ich bereits seit Jahren an die Untersuchung der Frage getreten, ob der durch das Ablagern des Bauholzes gebotene Schutz ein erheblicher ist, und ob wir ihn nicht preiswerter und sicherer auf andere Weise zu erzielen vermögen.

Das Ergebnis jener Beobachtungen und Untersuchungen läfst sich in Hinsicht auf den ersten Teil der Frage wie folgt zusammenfassen:

Es ist so gut wie ausgeschlossen, dafs im vollen Safte befindliche Nutzholzstämme überhaupt zur Verwendung gelangen,

1) »Der echte Hausschwamm und andere das Bauholz zerstörende Pilze.« Berlin, Julius Springer.

weil ihr Gewicht ein so hohes ist, dafs ihre Beförderung im Walde und aus dem Walde zum Zimmerplatz oder zur Baustelle mit ungemein grofser Mühe und hohen Kosten verbunden sein würde. Alles Nutzholz erfährt vielmehr vor seiner Verwendung eine zumeist beträchtliche Austrocknung, um seine Beförderungskosten niedrig ausfallen zu lassen. Daher ist die oben gestellte Frage richtiger dahin zuzuspitzen, ob der Grad der Austrocknung des in Neubauten verwendeten Holzes von wesentlicher Bedeutung für dessen Dauerhaftigkeit sei. Diese Frage mufs ich verneinen. Denn alles vor dem Fertigstellen der Eindeckung in Neubauten verbrachte Holzwerk wird dort wieder mit Wasser bereichert, vielfach sogar gesättigt; mag es sich im mäfsig ausgetrockneten, im lufttrockenen, im langjährig abgelagerten oder in künstlich hervorgerufenem völlig trockenem Zustande befinden, weil es der Einwirkung der Niederschläge offen liegt. Für die Gebälke dauert dieser Zustand zumeist mehrere Monate, für die Dachsparren mehrere Wochen. Herrscht während dieser Zeit regnerische Witterung, dann pflegen sie eine vollständige Wassersättigung aufzuweisen, wenn die Eindeckung fertiggestellt ist und ihnen nun Schutz gewährt. In sämtlichen Fällen hatte die zu diesem Zeitpunkt von mir angestellte Untersuchung das gleiche Ergebnis. Nicht viel günstiger stellte sich die Sachlage, wenn Gebäude im Vorfrühling zur Untersuchung gelangten, die vor Eintritt des Winters notdürftig unter Dach gebracht waren und deren Öffnungen man mit Brettern gegen das Eindringen der Niederschläge geschützt hatte. Stets fand ich die Fasern ihres gesamten Holzwerks völlig oder nahezu mit Wasser gesättigt. Im besten Falle war das zwischen die Fasern eingelagerte Wasser zur Verdunstung gelangt; in der Regel waren auch von diesem noch reichliche Mengen vorhanden. Aber selbst in den selteneren Fällen, in welchen durch Herrschen günstiger Witterung und rasches Vollenden der Dachdeckung jedes Durchnässen des Holzwerks vermieden war, ergab seine Untersuchung stets Wasserreichtum, oft sogar eine Wassersättigung der Holzfasern. (Eingelagertes Wasser fehlte dagegen in diesen Fällen.) Der Grund hierfür ist darin zu sehen, dafs erstens die Luft innerhalb der

Neubauten einen sehr hohen Gehalt an Wasserdampf aufweist, welchen sie aus dem frischen Mauerwerk aufnimmt, und zweitens eine unmittelbare Beeinflussung mancher Teile des Holzwerks, z. B. des Gebälks, durch die Mauerfeuchtigkeit stattfindet. Zwar pflegen die Balkenköpfe gegen Aufnahme der letzteren geschützt zu werden. Dagegen liegt der zwischen den Balken befindliche Fehlboden in seiner ganzen Länge den Mauern an. Da er gegenwärtig in der Regel grofse Mengen von Lehm enthält, so entnimmt dieser der Wand Feuchtigkeit und führt sie dem Holzwerk des Fehlbodens wie dem Gebälk zu[1]).

Bereits durch Rud. Hildebrand[2]), der unter der Leitung von F. Kohlrausch arbeitete, ist der Nachweis erbracht, dafs die Holzfaser ebensowohl aus dem Wasserdampfgehalt der Luft wie aus Flüssigkeiten diejenige Feuchtigkeitsmenge aufnimmt, welche zu ihrer Sättigung notwendig ist. Gelegentlich meiner Untersuchungen fand ich diesen Sachverhalt stets bestätigt. Und zwar erfolgt eine Anreicherung der Holzfasern, auch starker Hölzer[3]), mit Feuchtigkeit aus dem Wasserdampfgehalt der Luft in verhältnismäfsig kurzer Zeit. Je nach der Holzart wechselt diese Frist, während das Alter des Holzes als belanglos für diese Art der Feuchtigkeitsaufnahme bezeichnet werden mufs. Sie erfolgt bei altem Holz gegenüber dem jungen in nahezu unveränderter Weise, sobald ihr Wassergehalt der gleiche ist. Dagegen fand ich die Aufnahmefähigkeit des Holzes für Flüssigkeiten durch hohes Alter etwas verlangsamt, wenn es sich im lufttrockenen Zustande befand. Liefs man es aber zuvor einige Zeit in wasserdampfreicher Luft liegen, dann sog es Flüssigkeiten begierig auf.

Nicht viel günstiger fand ich die Sachlage bei der Untersuchung desjenigen Holzwerks, das erst nach der Fertigstellung der Eindeckung und der Verputzungen in die Neubauten gelangt,

1) Weiter unten wird diese Sachlage eine eingehendere Darlegung erfahren.

2) Untersuchungen über den Einflufs der Feuchtigkeit auf den Längenzustand von Hölzern und Elfenbein. Wiedemanns Annalen der Physik und Chemie (1888), 361 ff.

3) Rud. Hildebrand hat nur schwache Hölzer untersucht.

z. B. das der Fenster, Türen und Fufsböden. Der durch das Herstellen der Verputzuugeu wieder erhöhte Wassergehalt der Neubauten ruft auf Wochen eine Bereicherung, vielfach eine Sättigung der Holzfasern hervor; das Holzwerk der Fenster wird zum Teil durch Schlagregen getroffen; aus den Verputzuugen geht Feuchtigkeit in die Stöcke und Rahmen der Fenster wie der Türen über.

Erst dann, wenn das Mauerwerk der Neubauten der Lufttrockenheit sich näherte, fand ich das Holzwerk wieder annähernd in demjenigen Zustande der Austrocknung, den es beim Einbringen in die Neubauten besessen hatte. Völlige Lufttrockenheit des Holzwerks fand ich zur Zeit des Beziehens der Neubauten nur in Ausnahmefällen. In der Regel trat sie erst ein, wenn das Haus einen Winter über geheizt (uud bewohnt) worden war.

Man darf daher sagen, dafs das Holzwerk in Neubauten mindestens ein Jahr lang, meist länger, einen Wassergehalt zugeführt erhält, welcher der Lebenstätigkeit der Hutpilze förderlich ist. Dabei erwies es sich als ziemlich gleichgültig, ob das eingebrachte Holzwerk »waldtrocken«, »lufttrocken« oder jahrelang abgelagert war.

Aus diesen Gründen kann ich dem jahrelangen Ablagern des Bauholzes, namentlich der Gebälke, nicht diejenige Bedeutung zusprechen, welche man ihm bisher beigelegt hat, bin vielmehr der Ausicht, dafs es dringend notwendig ist, ein anderes, weiter unten zu besprechendes Verfahren zur allgemeinen Durchführung zu bringen, welches dem in Neubauten verbrachten und hier der Durchfeuchtung ausgesetzten Holzwerke einigen Schutz gegen die Angriffe der Hutpilze zu bieten vermag.

II. Die Verbesserung des Verfahrens zur Austrocknung des Bauholzes im Walde.

Das Lagern der gefällten Stämme im Walde hat für das Nutzholz bedeutsame Nachteile im Gefolge, die ganz besonders scharf für das Bauholz hervorzutreten pflegen, weil es auf verhältnismäfsig lange Zeit eiuer erneuten Durchfeuchtung (im Neubau) ausgesetzt ist, die als unvermeidlich bezeichnet

werden mufs. Robert Hartig[1]) hat bereits auf jene Nachteile die allgemeine Aufmerksamkeit gelenkt.

Die Stämme werden in der Regel unmittelbar auf den Waldboden gelegt. Nur einzelne »Wahlstämme«, sowie die Stöfse schwacher Stämme und Stangen pflegen Unterlagen zu erhalten, die sie übrigens dem Einflufs der Erdfeuchte nicht völlig entziehen. Durch jene Lage ist die Infektion des Nutzholzes infolge des Eindringens von Mycel der im Walde zahlreich vorkommenden Hutpilze in die Wundstellen der Stämme und die Astlöcher ermöglicht. Bei hinreichend warmer Witterung ist auch das Auskeimen und die Fortentwicklung von Sporen zu gewärtigen, welche der Wind den Stämmen zuträgt. Die bei längerem oder sonnigem Lagern im Walde erfolgende Splintrifsbildung befördert das Haften und Eindringen der Sporen.

Die vielfach vorkommende Schädigung des Nutzholzes durch Insekten ist ebenfalls in erster Linie dem Lagern der gefällten Stämme im Walde während deren Paarungszeit zuzuschreiben.

Zur Sicherung des Nutzholzes gegen seine Feinde sollte daher von dem Lagern der Stämme im Walde Abstand genommen und an seine Stelle wieder allgemein die »stehende Austrocknung« der Nutzholzstämme gesetzt werden, welche im Mittelalter vielfach, vereinzelt auch bis in unsere Zeit Anwendung gefunden hat, und neuerdings wieder, z. B. im Harz, sich einzuführen scheint. Sie wird dadurch hervorgerufen, dafs die zu Nutzholz und Bauholz bestimmten Stämme zur Sommerzeit »geringelt« werden. Zu diesem Zweck wird rings um den unteren Teil des Stammes ein beliebig breiter Streifen der Rinde entfernt nebst allem, was an ihr haftend, sich (mit geringer Mühe) loslösen läfst. Hierdurch wird das weitere Aufsteigen von Wasser aus dem Erdboden so gut wie verhindert, während die Blätter oder Nadeln nun dem Stamme seinen Saftgehalt begierig entziehen, um ihn für ihre Lebenstätigkeit zu verbrauchen. Auch trocknet der absterbende Stamm stehend weit rascher aus als liegend, weil er kraftvoller von der Luft umspielt wird und

1) a. a. O.

dem Einflufs der Erdfeuchtigkeit völlig entzogen ist, während die Rinde und die senkrechte Lage ihm gegenüber den Niederschlägen einen wirksamen Schutz verleihen.

Eine Reihe von Untersuchungen an teils eigenhändig geringelten kleinen (wertlosen) Stämmen, an teils zum Fällen bestimmten starken Nutzholzstämmen zeigte mir, dafs mit dem Welkwerden der Blätter oder Nadeln Lufttrockenheit der Stämme einzutreten pflegt. Und zwar wird dieser Zustand binnen einer verhältnismäfsig kurzen Frist erreicht.

Der Stamm kann daher jetzt bereits gefällt werden, falls nicht forstwirtschaftliche Gründe diesen Zeitpunkt weiter hinausschieben lassen. Ist das Fällen aber erfolgt, dann sollte der Stamm sogleich aus dem Walde abgefahren werden und tunlichst bald Verwertung finden, damit die Infektionsgefahr im Walde wie auf den Holzlager- und Zimmerplätzen auf ein Mindestmafs gebracht werde.

Als Zeitpunkt des Ringelns ist die Vollendung der Blüten- und Blatt- oder Nadelbildung zu wählen, weil für sie die nährwertigen Stoffe verbraucht worden sind, welche im Laufe des vorhergehenden Sommers und Herbstes in die Zellen des Stammes eingelagert worden waren. Der Stamm ist also jetzt arm an ihnen. Die Insekten meiden daher das Holzwerk, weil es ihnen nur wenig Nahrung zu bieten vermag und die Hutpilze finden auf ihm ebenfalls keinen günstigen Nährboden. In der Zeit zwischen dem Ringeln und dem Fällen schützt ferner die Rinde den ohne Wundstellen bleibenden Stamm vor dem Eindringen der Hutpilzsporen, während das rasche Austrocknen ihr Auskeimen und das Entwickeln etwa bereits vorhandenen Mycels verlangsamt oder hindert.

Was ich bisher an solchem Holze untersuchte, machte in jeder Beziehung den besten Eindruck. Seine Zähigkeit und Festigkeit schien mir erhöht zu sein, die Farbe war eine tadellose, Erkrankungen irgend welcher Art fand ich nicht. Ferner spricht das, was wir an Erfahrungen über derartig behandeltes Holz besitzen, für seine Güte und Widerstandsfähigkeit gegenüber seinen Feinden. In denjenigen Gegenden, wo das »Ringeln«

sich erhalten hat, wird es stets angewendet, sobald man besonders hohe Festigkeit und Haltbarkeit von den zu fertigenden Gegenständen verlangt, z. B. Deichseln, Achsen und Wagenräder aus dem Holz gewonnen werden sollen. Selbst die sonst so empfindliche Rotbuche hat sich (in einem mir bekannten Falle) an Stellen gesund erhalten, wo sie in Ruhe und bei geringer Durchlüftung sich befand[1]). Hierin ist ein sicheres Zeichen zu sehen, dafs sowohl die Insekten wie die Hutpilze in derartigem Holz nicht, oder sicher nur schlecht zu gedeihen vermögen.

Durch das »Ringeln« der Stämme nach der Blatt- und Blütenbildung und ihre »stehende Austrocknung« werden also jedenfalls bedeutsame Vorteile für das Bauholz und sonstige Nutzholz erreicht und die Infektionsgefahr auf das Mindestmafs herabgesetzt, welche das Trocknen im Walde für das Holz herbeiführt. Ferner gewährt dieses Verfahren dem Bauholz einen weit höheren Schutz, als jahrelanges Ablagern es vermag. Das binnen verhältnismäfsig kurzer Frist stehend getrocknete Bauholz darf vielmehr sofort Verwendung finden, wodurch seine Kosten herabgesetzt werden und die Infektionsgefahr auf Lager- und Zimmerplätzen in Fortfall kommt, die hinsichtlich des echten Hausschwamms als die belangreichere bezeichnet werden mufs, wenn auch vereinzelt in deutschen Wäldern dieser Pilz aufgefunden worden ist.

Die Kosten des Ringelns sind als geringfügig zu bezeichnen. Schon dadurch dürften sie aufgewogen werden, dafs den Forstverwaltungen keine Verluste mehr entstehen, indem Nutzholz während des Lagerns im Walde soweit zersetzt wird, dafs seine Erkrankung zu erkennen ist. Denn als krank erkannte Stämme gibt keine Forstverwaltung mehr als Nutzholz ab. Ihr Wert sinkt also auf den des Brennholzes herab.

Geht es, z. B. im Gebirge, nicht an, das Fällen und Befördern der Nutzholzstämme vor dem Winter vorzunehmen, so ist hierin ein belangreicher Nachteil keineswegs zu sehen, sobald

1) Auch die starke Neigung ihres Holzes zum Werfen und Reifsen soll durch jenes Verfahren auf ein erträgliches Mindestmafs gebracht werden. Doch fand ich bisher keine Gelegenheit hierüber Beobachtungen anzustellen.

nur das Ringeln rechtzeitig erfolgt ist. Seiner Ausführung stehen aber nirgends Schwierigkeiten entgegen. Unter den im Hochgebirge während des Sommers herrschenden klimatischen Verhältnissen bedeutet die Verlängerung der Austrocknungsfrist von geringelten Stämmen eher einen Vorzug als einen Nachteil, weil der starke Tau und die zumeist reichen Regenfälle das Austrocknen zu verlangsamen vermögen.

Der allgemeinen Durchführung dieses Austrocknungsverfahrens für sämtliches Nutzholz steht daher kein Hindernis entgegen. Ich halte sie aber für eine dringende Notwendigkeit, um dem gegenwärtig geradezu erschreckenden Umsichgreifen der Holzkrankheiten in Deutschlands Bauwerken und Häusern entgegenzuwirken, dem jährlich Millionen an Volksvermögen zum Opfer fallen.

III. Ein für die Bekämpfung der Holzkrankheiten interessanter Befund in den Niederlanden.

Gelegentlich von fünfwöchigen Studien über die Anlage, Bauart und Einrichtung des holländischen Familienhauses fiel es mir auf, dafs für dessen Erdgeschofsboden allgemein Holzdielen Verwendung finden, die auf Lagerhölzern ruhen. Sämtliche von mir besichtigte Häuser und Neubauten waren nicht oder nur unvollständig unterkellert und befanden sich über feuchtem Untergrund. Bisweilen sah ich in Neubauten den Wasserspiegel nur 0,60—1,00 m von den Lagerhölzern des Erdgeschofsfufsbodens entfernt offen liegen. Selten hatten jene Hölzer einen Schutzanstrich aus Kreosotöl, schweren Teerölen u. dergl. erhalten. Im allgemeinen wurde es als hinreichend erachtet, durch Einlegen kleiner Drahtsiebe oder gelochter Bleche in die Aufsenwände eine zwar ständige, aber nur geringfügige Durchlüftung unterhalb der Dielung hervorzurufen. In den Obergeschossen fand ich die Dielenböden neuerer Häuser oft mit Linoleum belegt, ohne dafs für eine Durchlüftung der Holzbohlendecken Sorge getragen war. Das sind Konstruktionen, die in Deutschland der vorsichtige Techniker nicht anwendet, weil für sie das Entstehen von Holzkrankheiten mit einiger

Wahrscheinlichkeit zu gewärtigen ist. Trotzdem fand ich bei keiner meiner vielen Besichtigungen auch nur eine Spur kranken Holzwerks, und es wurde mir von den mich führenden Architekten stets wieder die gleiche Versicherung gegeben, dafs man dort Holzkrankheiten nur dem Namen nach kenne. Wie weit diese Versicherung für die ganzen Niederlande zutreffend ist, mufs ich dahingestellt lassen. In denjenigen Städten und Landstrichen, welche ich besuchte, fand ich sie bestätigt.

Für diesen auffallenden Unterschied zwischen der gegenwärtig in Deutschland und in jenen Teilen der Niederlande herrschenden Sachlage scheint mir hauptsächlich folgende Ursache mafsgebend zu sein: Es wird für die Bauten dort seit vielen Jahren ausschliefslich nordisches Holz verwendet, das im fertig geschnittenen Zustande und ringsum gehobelt zur Verfrachtung gelangt. Selbst die untergeordnetsten Holzteile, wie Putzlatten, Dübel u. a. sind rechtwinklig geschnitten und ringsum sauber gehobelt. Soweit ich in Erfahrung bringen konnte, scheinen die nordischen Waldungen weit weniger Hutpilze zu beherbergen als die deutschen. Ferner werden aber von dem Holz vor dem Verfrachten durch Beschneiden und Hobeln bereits alle jene Teile entfernt, an denen Sporen oder frisch ausgekeimtes Mycel zu haften pflegen. Im Gegensatz hierzu findet man in Deutschland an den »wankantig« gelassenen Balken, an den Fufsbodenlagerhölzern, an dem zur Fehlbodenherstellung benutzten Holzwerk, an Putzlatten und anderen untergeordneten Bauteilen fast allgemein sämtliches Splintholz belassen, vielfach noch Bast und gelegentlich sogar Rinde haften. Die Übertragung der im Walde lebenden Hutpilze in die Bauten ist daher bei uns gegeben, während sie für das in den Niederlanden verwendete Bauholz auf ein Mindestmafs herabgesetzt wird.

Auch einer später zu gewärtigenden Infektion durch den echten Hausschwamm oder andere Hutpilze wirkt das Hobeln des Holzes entgegen, weil es das Haften der Sporen oder kranker fremder Holzteilchen erschwert. Allerdings dürfte das Fehlen des echten, in Wäldern ja seltenen Hausschwamms mehr noch dem Umstande zuzuschreiben sein, dafs das nordische Holz

weder in seiner Heimat noch in den Niederlanden der Infektionsgefahr ausgesetzt ist.

Für die Zwischendecken der Obergeschosse kommen noch einige weitere Umstände in Betracht, welche dazu beitragen, das Holzwerk der Bauten gesund zu erhalten. Aber sie können nicht die Ursache der Gesunderhaltung des vielfach feucht liegenden Erdgeschofsfufsbodens bilden. Daher dürfte in der ausschliefslichen Verwendung fertig geschnittenen, ringsum gehobelten nordischen Holzes ein Mittel zu suchen sein, um in solchen Gebieten dem Entstehen von Holzkrankheiten entgegenzuwirken, wo sie noch nicht zur Verbreitung gelangt sind.

Als jene günstigen Umstände zur Gesunderhaltung des Holzwerks der Neubauten in den Niederlanden nenne ich der Vollständigkeit wegen:

Erstens erhalten die Wände wie die tragenden Hölzer so schwache Ausmafse, dafs ihre Austrocknung binnen einer sehr kurzen Frist erfolgt. Auch die Beeinflussung des Holzwerks durch Niederschläge pflegt keine lang andauernde zu sein, weil die leicht gebauten niederen Häuser rasch aufgeführt und unter Dach gebracht werden.

Zweitens erhalten die Zwischendecken weder einen Fehlboden noch irgend welche Ausfüllung. Die Mängel, welche mit ihnen in Deutschland verknüpft sind[1]), kommen daher in Fortfall, und die Austrocknung des Gebälks pflegt erfolgt zu sein, wenn durch das Anbringen des Fufsbodens seine Durchlüftung auf ein geringes Mafs herabgesetzt wird.

Drittens werden die Wetterseiten aller Gebäude aus Klinkern hergestellt und mit einem recht dichten Mörtel verfugt. Die Beeinflussung des Holzwerks durch den Schlagregen dürfte daher eine geringe sein.

IV. Die Anwendbarkeit von Holzkonstruktionen in Neubauten.

Bis in die 80er Jahre herrschte im vorigen Jahrhundert in Hinsicht der Anwendbarkeit von Holzkonstruktionen und ihrer Art eine weitgehende Sorglosigkeit. Man liefs die Vorsichts-

1) Vgl. Abschnitt V.

mafsnahmen fast allgemein aufser acht, welche in früheren Jahrhunderten stets getroffen worden waren, um das Holzwerk gesund zu erhalten. Man brachte es in verdeckten, von der Luft mehr oder weniger abgeschlossenen Lagen an und schützte die Umfassungswände der Stadthäuser kaum noch gegen den Schlagregen. Die nachteiligen Folgen sind nicht ausgeblieben, und es ist jetzt an die Stelle jener Sorglosigkeit in vorsichtigen Technikerkreisen eine fast zu weit gehende Ängstlichkeit getreten, der gegenüber es mir notwendig erscheint, Klarheit zu gewinnen, an welchen Stellen von Holzwerk Gebrauch gemacht werden darf, und wie die aus ihm hergestellten Konstruktionen beschaffen sein müssen, um gegen Holzkrankheiten geschützt zu sein.

Völlig gesundes und von Hutpilzsporen freies Holzwerk bietet — wie das Beispiel der Niederlande zeigt — dort keine Gefahr, wo Ansteckung ausgeschlossen ist. Aber in Deutschland sind wir gezwungen, mit der letzteren zu rechnen; kommt sie doch häufig genug vom Nachbarhause aus zustande. Diese Gefahr läfst sich erheblich verringern, indem das in Abschnitt II geschilderte Austrocknungsverfahren für alles Nutzholz in Anwendung gebracht wird. Aber aufgehoben ist sie hierdurch wohl kaum. Man darf daher Holzwerk ausschliefslich an Stellen verwenden, wo die es zerstörenden Pilze ihre Lebensbedingungen nicht zu finden vermögen, d. h. wo es dauernd trocken erhalten bleibt. Da aber, selbst in bestens geschützten Gebäuden eine Durchfeuchtung des Holzwerks sowohl aus wasserdampfreicher Luft wie durch unvorhergesehene Ereignisse oder Vornahmen zu erfolgen vermag, so mufs ihm unter allen Umständen die Möglichkeit raschen Austrocknens geboten werden. Es darf also nicht von der Luft abgeschlossen angebracht sein, soll vielmehr mit mindestens einer Seite von der Luft frei umspielt werden.

Wo diese Bedingung nicht erfüllt werden kann, müssen Stein- oder Eisenkonstruktionen u. dergl. an die Stelle des Holzwerks treten. Dasselbe gilt von Räumen, in denen Flüssigkeiten häufig oder in reichlichen Mengen zur Verschüttung gelangen oder zur Säuberung, z. B. des Fufsbodens, Verwendung finden, oder in denen die Luft an Wasserdampf reich zu sein pflegt.

Da ferner Urin und andere tierische Abgänge das Pilzleben erfahrungsgemäfs befördern, so müssen wir ihr Herantreten an das Holzwerk und die mit ihm in Verbindung stehenden Wände hintanzuhalten bemüht sein und dürfen kein Holzwerk in Räumen anbringen, wo Urin u. dergl. zum Austritt gelangt oder es doch auf das unumgängliche Mindestmafs, z. B. auf Fenster und Türen, beschränken.

Bei der Anwendung dieser Grundregeln auf Bauwerke gelangt man zu folgenden Ergebnissen:

Für den Fufsboden oder die Decke des Kellers darf Holzwerk keine Anwendung finden. Denn dort herrscht während eines grofsen Teiles des Jahres ein hierfür zu hoher Feuchtigkeitsgehalt der Luft, der häufig zur Schwitzwasserbildung auf Mauerwerk und Holzwerk Veranlassung gibt. Es kommt hinzu, dafs im Keller nur schwache Luftbeweguug, mäfsige Helle und ein ziemlich gleichmäfsiger, den Hutpilzen zusagender Wärmegrad herrschen. Es sind daher zu einem üppigen Pilzleben wie zum Auskeimen der Hutpilzsporen sämtliche Bedingungen geboten, und es hat die Erfahruug gelehrt, dafs das Holzwerk des Kellers vielfach zum Ausgangspunkt schwerer Schädigungen des ganzen Gebäudes durch Hausschwamm oder andere Holzkrankheiten wird.

Die über den Kellergewölbeu befindlichen Fufsböden, namentlich aber die auf ihnen unmittelbar ruhenden Lagerhölzer sind gefährdet, weil ihnen aus dem Kellergewölbe zeitweise, wenn nicht dauernd, beträchtliche Feuchtigkeitsmengen zugeführt werden. Isoliert man die Lagerhölzer vom Kellergewölbe durch Stoffe oder Körper, welche für Wasser undurchlässig sind, dann bleibt immer noch die Gefahr ihrer Durchfeuchtung infolge von Schwitzwasserbildung, sobald warme Luft an ihre kühl gehaltenen Flächen herantritt. Genau das Gleiche gilt von den Fufsböden nicht uuterkellerter Erdgeschofsräume.

Weit verbreitet ist die Ansicht, dafs man derartigen Fufsböden Schutz zu bieten vermöge, indem man der Zimmerluft Zugang zu ihrer Unterkante und den Lagerhölzern verschafft.

Diese Anschauung erscheint mir auf Grund theoretischer Erwägungen irrig. Doch fehlt es an Erfahrungen zur endgültigen Entscheidung dieser Frage, weil erst seit wenigen Jahren Ausführungen solcher Art erfolgt sind.

Durch die erhöhte Zuführung von Zimmerluft dürfte die Schwitzwasserbildung nicht verhindert, sondern beträchtlich vermehrt werden. Denn je wärmer die Zimmerluft ist, um so stärker pflegt sie am Kellergewölbe oder am Erdboden abgekühlt zu werden, um so mehr Wasser aus ihr sich niederzuschlagen. Denn gegenüber dem gewaltigen Wärmespeicher des Erdbodens bleibt auch eine kraftvolle Heizung in der Regel machtlos, und die Zimmerluft pflegt ausreichend Gelegenheit zur Aufnahme von Feuchtigkeit zu finden, ehe sie unter den Fufsboden hinabsinkt.

Nur über Kellern, die geheizt sind oder in welchen eine Sammelheizuug sich befindet, von der beträchtliche Wärmemengen dem gesamten Keller zuströmen, wird eine derartige Zuführung der Zimmerluft unter den Fufsboden den erstrebten Erfolg haben, weil jene Abkühlung ausbleibt oder gering ausfällt.

Abgesehen von dem letzteren Falle, halte ich es daher für geraten, von der Anwendung eines Holzfufsbodens auf Lagerhölzern über dem Keller oder dem Erdboden Abstand zu nehmen. Bedarf man eines Holzfufsbodens in den Räumen des Erdgeschosses, dann empfiehlt sich die Anwendung von Riemen, Stäben oder Parketten, die mittels Asphaltkitt oder Käsekitt auf einem Asphaltestrich, Ziegelboden, einer Betonschicht u. dergl. befestigt werden.

Als verwerflich mufs die Anwendung von Holzfufsböden, Holzbalken- oder Holzbohlendecken bezeichnet werden in Wasch-, Spül- und Kochküchen, Badezimmern, Laboratorien, Operationszimmern, Klosetts, Stallungen und anderen Räumen, welche mit Wasserausgüssen, Wasserzapfstellen u. dergl. versehen werden, in denen ständig oder regelmäfsig reiche Wasserdampfmengen zur Entwicklung gelangen oder Flüssigkeiten auf den Boden ausfliefsen. Selbst dort, wo eine ausgiebige Lüftung derartiger Räume stattfindet, ist dem Holzwerk der

Zwischendecken eine ausreichende Sicherung gegen das Zerstörungswerk der Hutpilze nicht geboten. Vielfach habe ich von solchen Zwischendecken Holzkrankheiten ausgehen und sich in benachbarte Räume und Nachbargebäude erstrecken sehen. Namentlich der echte Hausschwamm vermag durch seine Fähigkeit, Wasser auf ziemlich weite Strecken zu befördern, von solchen Zwischendecken aus weiter vorzudringen und sein Zerstörungswerk auf Holzwerk zu übertragen, welches vollkommen gesichert erschien. Soll daher in einem der genannten Räume ein Holzfufsboden zur Anwendung gelangen, dann darf es ausschliefslich ein in Asphaltkitt oder Käsekitt verlegter Stabboden sein.

Besonders gefährdet ist ferner alles Holzwerk, welches die nach Wetterseiten freiliegenden Wände berührt oder in sie eingreift, falls sie nicht gegen das Eindringen des Schlagregens gesichert werden.

In mehreren Fällen fand ich, dafs in neuen und sonst durchaus sachgemäfs gebauten Häusern der Hausschwamm oder ihm verwandte Holzkrankheiten von der ungeschützt gelassenen Wetterseite aus in die Zwischendecken und Wandtäfelungen sämtlicher Geschosse, in einzelnen Fällen sogar nur der Obergeschosse, sich verbreitet hatten. Die Zerstörung des Holzwerks war in sämtlichen Fällen nahe der Wetterseite eine vollständige, wurde dann allmählich schwächer und hörte meist inmitten der Räume auf, so dafs die Ursache für die Darbietung der Möglichkeit des Pilzlebens in jedem einzelnen Falle deutlich und unverkennbar vor Augen lag. Die Balkenköpfe waren meist gegen das Mauerwerk sicher isoliert worden. Dagegen lag der Lehmschlag des Fehlbodens der Wetterwand an und hatte die Fortleitung der Feuchtigkeit übernommen. Dafs die Anwendung von Hohlschichten in Wetterseiten keinen Schutz gewährt, vielmehr als bedenklich bezeichnet werden mufs, sah ich in zwei Fällen. Der echte Hausschwamm hatte sich in den Hohlräumen üppig entwickelt und war so von Balkenkopf zu Balkenkopf gelangt, die bis zum Hohlraum vorzuragen pflegen[1]).

[1]) Eine gleiche Beobachtung ist mir von Herrn Baurat Collmann von Schatteburg in Schleusingen mitgeteilt worden.



Auffallend oft fand ich den echten Hausschwamm und seine Verwandten nahe den Wetterseiten solcher Gebäude, die eine Aufsenverblendung aus Sandstein oder feinporigem Kalkstein erhalten haben oder aus solchem Gestein aufgeführt worden sind.

Diese feinporigen Gesteine lassen nach meinen Untersuchungen das Wasser (der Niederschläge) zwar nur langsam vordringen, aber sie führen es in ihrer ganzen Tiefe in die Wände hinein und trocknen sehr langsam aus. Während in Ziegelwänden auch nach längerem Regenwetter der innere Teil weit weniger Wasser zu enthalten pflegt als der äufsere, zeigten sich jene Wände in der Regel nach andauerndem Schlagregen durch die ganze Tiefe des Gesteins mit Wasser völlig oder nahezu gesättigt, und die Austrocknung der Steine ging wesentlich langsamer vor sich als die des Mörtels, während in Ziegelwänden das Umgekehrte der Fall zu sein pflegt. Das von solchen Wänden beeinflufste Holzwerk bietet daher während eines grofsen Teils des Jahres den Hutpilzen diejenige Feuchtigkeitsmenge, deren sie zur Entfaltung ihrer Lebenstätigkeit bedürfen.

Bestehen die Aufsenwände der Gebäude ganz aus feinporigem Werkstein, dann werden Holzbalkendecken besser vermieden, während die Vertäfelungen, Fufsböden u. dergl. durch eine für Flüssigkeiten undurchlässige Schicht von den Wandflächen zu trennen sind. Nach meinen im kleinen wie im grofsen Mafsstabe angestellten Versuchen eignet sich zu diesem Zweck ganz vortrefflich ein Verputz der Innenflächen mit Milchkalkmörtel. Es ist dieses ein Gemisch aus Ätzkalkbrei und Sand (im Verhältnis von 1 : 1—2) und Magermilch (statt Wasser). Auch zum Vermauern und Verfugen der Werksteine ist dieser Mörtel das einzige (technisch) in jeder Hinsicht vollkommen geeignete Bindemittel.

Werden die Wände nur mit einer Aufsenverblendung aus feinporigem Werkstein versehen, dann reicht es zum Schutze des Holzwerks aus, die (aus Ziegeln bestehende) Hintermauerung mit jenem Mörtel vollständig von der Verblendung zu trennen und die etwa durch die Hintermauerung greifenden Köpfe der Holzbalken oder Bohlen mit einer mindestens 2 cm starken

Umhüllung aus jenem Mörtel gegen Feuchtigkeitsaufnahme aus dem Gestein zu sichern[1]).

Von jeder anderen Wetterwand ist zu beanspruchen, dafs sie in irgend einer Weise gegen das Eindringen des Schlagregens geschützt wird; eine Forderung, die ja auch in Hinsicht auf die Trockenerhaltung jedes Aufenthaltsraumes unbedingt zu erheben ist.

Mit Vorliebe suchen die Hutpilze ferner die Dachgespärre und die Dachschalungen auf, sobald die Dacheindeckung keine oder geringe Luftdurchlässigkeit aufweist. Von Technikern ist diese Tatsache vielfach als eine auffällige bezeichnet worden. Dem Kenner der Sachlage ist sie es nicht: Die im Hause sich erwärmende Luft pflegt beträchtliche Feuchtigkeitsmengen auf ihrem Wege aufzunehmen, die teils aus dem Mauerwerk, teils aus der Atemtätigkeit der Bewohner, teils aus Verbrennungsvorgängen (z. B. der Flammenbeleuchtung), teils aus der Haushaltsführung (aus Küchen, Bädern u. dergl.) stammt. Emporgedrückt durch die aus dem Freien nachdringende kalte Luft, pflegt ein Teil jener warmen Luft an die Eindeckung des Daches zu gelangen. Kann sie hier nicht rasch entweichen, dann erfährt sie eine oft hochgradige Abkühlung, die zur Schwitzwasserbildung führt.

Langjährige Beobachtungen und Erfahrungen haben mir gezeigt, dafs das Holzwerk des Daches unter stark luftdurchlässigen Eindeckungen sich gesund zu erhalten pflegt, während es unter undurchlässigen und wenig durchlässigen Eindeckungen der gröfsten Vorsicht bedarf, um das Entstehen von Holzkrankheiten hintanzuhalten. Mit Metalldeckungen, mit dem Holzzementdach und mit der Bekleidung der Dachschalung durch Dachpappe unter Schieferdeckung sind während der letzten Jahrzehnte des vorigen Jahrhunderts viele trübe Erfahrungen ge-

1) Als Aufsenputz oder Fugenverstrich der vom Schlagregen getroffenen Ziegelwände leistet der Milchkalkmörtel ebenfalls gute Dienste. Er wird sehr fest, ist vollkommen wetterbeständig und läfst Flüssigkeiten, Auswitterungen u. dergl. nicht hindurchtreten, während seine Durchlässigkeit für Luft und Wasserdampf als eine ausreichende bezeichnet werden darf. Er ähnelt in allen Beziehungen der Eierschale.

sammelt. Will man sie vermeiden, dann mufs erstens für zahlreiche Austrittsöffnungen der Luft Sorge getragen werden, zweitens alles Holzwerk mit mindestens einer Kante der Luft offen liegen, drittens ein Wärmeschutz Anwendung finden, der zwischen dem Eindeckungskörper und der ihn tragenden Schalung liegen sollte. Dicker Filz aus Baumwolle, Papier u. dergl. ist hierzu besonders gut geeignet.

Ein häufiges Vorkommen und üppiges Gedeihen der Holzkrankheiten ist endlich in denjenigen Gebäuden zur Beobachtung gelangt, welche der gelegentlichen Überschwemmung durch Grundwasser oder Oberflächenwasser ausgesetzt sind. Es mufs daher als Grundsatz gelten, in denjenigen Geschossen dieser Gebäude, welche der Durchfeuchtung unterliegen, das Holzwerk auf die Türen und Fenster zu beschränken, die höher gelegenen Geschosse aber von ihnen durch eine auf die Dauer undurchlässige Schicht sicher zu trennen. Oberhalb dieser Trennungsschicht wird man Holzwerk unter der Bedingung auch für Zwischendecken, Fufsböden, Wandtäfelungen u. dergl. verwenden dürfen, dafs sie der austrocknenden Wirkung der Luft nicht entzogen sind.

V. Die Sicherung der Gebälke gegen das Zerstörungswerk der Hutpilze.

Die Gebälke der Zwischendecken haben sich bei deren gegenwärtig üblichen Bauart als besonders stark gefährdet und wenig widerstandsfähig gegen die Angriffe der Hutpilze erwiesen. Nach meinen Untersuchungen ist die Ursache hierfür eine zweifache:

Erstens ist es im vorigen Jahrhundert üblich geworden, die Zwischendecken an ihrer Unterkante mit einem wagerechten Abschlufs und Verputz zu versehen. Hierdurch wird zwar die Feuersicherheit erhöht, aber man entzieht das Gebälk dem unmittelbaren Einflufs der Luft und der hohen Temperaturen, welche in geheizten Räumen nahe der Zimmerdecke zu herrschen pflegen.

Zweitens gefährdet der Lehm das Gebälk, welcher in zumeist reichlicher Menge zur Herstellung des »Fehlbodens« der

Zwischendecke angewendet wird. Infolge seines feinen Gefüges trocknet der Lehm ungemein langsam aus und vermag das Wasser auf eine weite Strecke fortzuleiten, welches er aus den feuchten Wänden der Neubauten aufnimmt. Der Lehm verlangsamt daher die Austrocknung der Gebälke ganz wesentlich und bleibt monatelang, an ungeschützten Wetterwänden dauernd eine Quelle der Durchfeuchtung für sämtliches Holzwerk der Zwischendecken.

Zu diesen Mifsständen gesellt sich der weitere, dafs jener untere Deckenabschlufs wie der Fehlboden in den Neubauten frühzeitig hergestellt werden müssen, weil der Fehlboden zur Sicherung der Bauarbeiter gegen Sturz dient, und der Deckenverputz fertiggestellt sein mufs, ehe mit dem Innenwandputz begonnen werden kann. Der Neubau enthält daher zu jener Zeit noch viel Feuchtigkeit und die Verputzungen führen ihm aufs neue Wasser zu. In Räumen, die Riemenböden u. dergl. erhalten sollen, erfolgt gleichzeitig das Ausfüllen der Balkenfache mit Sand und das Legen des Blindbodens. Das stets noch feuchte, oft wasserreiche Gebälk wird dann der unmittelbaren Einwirkung der Luft und hoher Wärmegrade entzogen, ehe seine Austrocknung auch nur annähernd erfolgt ist, bleibt daher noch monatelang in einem Feuchtigkeitszustande, welcher dem Leben der Hutpilze förderlich ist. In einigen Fällen konnte ich feststellen, dafs die vollständige Austrocknung des Gebälks ein Jahr nach der Fertigstellung der Eindeckung noch nicht erfolgt war, während dieser Zeit aber seine (bereits hochgradige) Zerstörung durch Hutpilze stattgefunden hatte.

Auf Grund meiner Befunde stehe ich daher auf dem Standpunkte, dafs die übliche Bauart der Zwischendecken als verwerflich und dringend verbesserungsbedürftig zu bezeichnen ist. Und zwar sollte Lehmschlag nicht weiter angewendet werden dürfen und die Unterkante des Gebälks sichtbar gelassen werden, wie das in früheren Jahrhunderten allgemein üblich war. Sie liegt nun der Einwirkung der Luft offen und wird in geheizten Räumen dann von ihr umspielt, wenn die Luft auf einem hohen Wärmegrade sich befindet, also grofse Wasserdampfmengen aufzunehmen vermag. Einem trocknenden hochwarmen Luftstrome

aber erliegen sämtliche Hutpilze rasch. Selbst in Räumen, die sonst ungüustigen Verhältnissen ausgesetzt sind, wird dieser während jeder Heizperiode wiederkehrende Vorgang die Gebälke schützen.

Als Beweis hierfür führe ich folgenden Befund an: Iu einem rings mit Sandstein verblendeten vornehmen Landhause Hannovers, welches vor etwa 30 Jahren in gotischem Geschmack errichtet worden ist, fand ich sämtliche (über dem Erdgeschofs befindliche) Zwischendecken dieser Bauart uutadelig erhalten, obgleich in allen übrigen Zwischendecken und hinter den Wandtäfelungen in unmittelbarer Nähe des Fufsbodens der gesunden Zwischendecken der echte Hausschwamm sich angesiedelt hatte und an manchen Stellen zu üppiger Wucherung gelangt war. Da die 4 m hohen Erdgeschofsräume mit Ofenheizung verseheu waren, dürften allerdings uahe der Decke recht hohe Wärmegrade zustande gekommen sein, um zwischen Kopfhöhe und Fufsboden eine angemessene Temperatur zu erzielen.

Die äufsere Erscheinung der Zimmerdecken mit hervortretendem Gebälk läfst sich weit reizvoller gestalten als die der gegenwärtig üblichen Decken, und die Mehrkosten sind als unwesentlich zu bezeichnen, sobald die Balken oder Bohlen mit der Maschine geschnitten und gehobelt werden. Auch das Verlangen nach Feuersicherheit kann nur in Einzelfällen ein Hindernis für die vorgeschlagene Bauart der Zwischendecken bilden, denn der Grad ihrer Feuersicherheit reicht für Wohnräume u. dergl. vollkommen aus. Wo aber ein wagerechter Deckenabschlufs beansprucht oder gewünscht wird, sollte man lieber Steindecken wählen als eine Bauart der Holzdecken, die als bedenklich für ihren Bestand bezeichuet werden mufs.

Ganz besonders notwendig ist das Freilassen der Gebälkunterkanten dort, wo über ihm ein Estrich, z. B. für Linoleumbelag, gebildet werden soll. Zu diesem Zweck ist es erforderlich, die Füllstoffe einige Zentimeter über das Gebälk aufzufüllen, damit Holz und Mörtel nicht in unmittelbare Berührung gelangen, weil sonst die ungleichen Bewegungen von Holz und Mörtel zur Rissebildung im Estrich Veranlassung geben.* Infolge-

dessen ist der obere Teil des Gebälks von der Luft ziemlich vollkommen abgeschlossen. Seine Austrocknung und Trockenerhaltung ist daher fragwürdig, wenn nicht sein unterer Teil der Einwirkung eines warmen, trocknenden Luftstroms offenliegt.

Als Ersatz für den Lehmschlag eignet sich nach meinem Dafürhalten einzig der Milchkalkmörtel. Er ist zu allen Konstruktionsweisen des Fehlbodens weit mehr brauchbar als jener, da er hohe Festigkeit und Zähigkeit mit innigem Haften am Holz (wie an Eisen, Stein und anderen Körpern) vereinigt. Die Kosten des aus ihm gebildeten Fehlbodens werden sich kaum höher stellen als die des aus Lehmschlag gebildeten, weil der Milchmörtel weit einfacheres, reinlicheres Arbeiten zuläfst und sich ganz vorzüglich zum Deckenputz eignet. Man braucht nur die Unterseite des Fehlbodens mit ihm abzuglätten, um einen vortrefflichen Malgrund zu erhalten. Vor allen Dingen gewährt der Milchmörtel aber dem Holzwerk Schutz gegen Wasseraufnahme, während der Lehmmörtel ihm Wasser zuführt.

Daher geht mein Vorschlag dahin, zum Herstellen oder Dichtstellen des Fehlbodens künftig ausschliefslich Milchmörtel zu verwenden, die Anwendung von Lehmmörtel für diesen Zweck aber hintanzuhalten; soweit dies tunlich erscheint, sie zu verbieten.

VI. Die Desinfektion der Krankheitsherde.

Eine Erkrankung des Holzwerks durch Hutpilze ist nicht leicht zu beheben. Es bedarf äufserster Vorsicht, um das Fortwuchern des feinen, mit unbewaffnetem Auge nicht erkennbaren Mycels und das Auskeimen von Sporen hintanzuhalten. Das Entfernen der als krank erkennbaren Teile des Holzwerks reicht unter keinen Umständen aus. Es ist vielmehr notwendig, von dem gesund erscheinenden Holzwerk noch mindestens auf 1 m Länge alles zu entfernen, was irgend mit dem als erkrankt erkannten Holze in Verbindung gestanden hat. Denn dieses Holz bietet höhere Gefahr als das völlig zerstörte, in welchem das Mycel bereits abgestorben ist. Handelt es sich um den echten Hausschwamm oder den Porenhausschwamm, dann müssen auch das nahe befindliche Mauerwerk, die Füllstoffe und andere poröse

Körper sorgfältig untersucht werden, und es ist von ihnen alles zu entfernen, was morsch oder von den Pilzen befallen erscheint. Denn beide Arten vermögen auf weite Strecken in und an durchlässigen Körpern fortzuwuchern und sie zu zersetzen.

Hat man sämtliche Krankheitsherde des Hauses auf diese Weise gesäubert, dann ist es notwendig, das noch etwa vorhandene feine Mycel und die Sporen der Hutpilze zu vernichten. Am sichersten geschieht dieses meines Erachtens durch Übergehen der gesamten Teile und der Umgebung des Krankheitssitzes mit der Lötrohrflamme. Dabei soll eine tunlichst hohe Erhitzung derjenigen Körper erfolgen, in welchen Pilzleben zu gewärtigen oder zu vermuten ist. Nach meinen Erfahrungen ist Hitze das beste Vernichtungsmittel gegen Hutpilze. Mycel stirbt bereits bei einer Temperatur von 37° C ab, während Sporen als ausreichend geschwächt gelten dürfen, wenn sie während einiger Minuten Temperaturen von 40° C ausgesetzt waren. Die Erhitzung kleinerer Holzteile u. dergl. läfst sich auch durch ihr Einlegen in die siedendheifse »Milch« von frisch gelöschtem Kalk erreichen.

Von den chemischen Stoffen haben das Kreosotöl und die es enthaltenden Flüssigkeiten zwar nach Robert Hartigs Versuchen als wirksames Vernichtungsmittel der Hutpilze sich erwiesen, aber sein Geruch ist ein so durchdringender und lange haftender, dafs in Aufenthaltsräumen von ihm kaum Gebrauch gemacht werden darf. Eher wird man hier Zinkchlorid anwenden können, das als leidlich bewährt gilt, während das ebenfalls fast geruchfreie Antinonnin noch als recht zweifelhaft in seiner Wirkung bezeichnet werden mufs, obgleich seiner neuesten Zusammensetzungsform hohe Wirksamkeit nachgerühmt wird.

237

Der Einflufs hoher Temperaturen auf den Schmelzpunkt der Nährgelatine.

Von

Dr. Walter Gaehtgens.

(Aus dem hygienisch-bakteriologischen Institut zu Strafsburg i. Els.)

Die von Professor Forster[1]) schon seit Jahren im Amsterdamer und hiesigen hygienischen Institute geübte Weise der Nährgelatinebereitung stützt sich, ebenso wie die anderen in späterer Zeit bekannt gewordenen Methoden, auf die Erfahrung über die Erniedrigung des Schmelzpunktes der Gelatine unter dem Einflusse der Erhitzung. Bereits 1897 hat C. C. van der Heide[2]) durch eine Reihe von Versuchen die ziffermäfsige Grundlage für diese Herstellungsweise der Nährgelatine geschaffen, indem er das Verhalten der Gelatine nach einer mehr oder weniger langen Erhitzung bei 100° C nach allen Richtungen sorgfältig prüfte. Indessen blieb die Frage unbeantwortet, ob nicht möglicherweise die kürzere Erwärmung der Gelatine bei einer über 100° C liegenden Temperatur den Verflüssigungspunkt weniger stark zum Sinken bringt, als die längere bei 100° C. Diesen Punkt möglichst vollkommen klarzustellen, ist der Zweck der vorliegenden Arbeit, welche ich auf Anregung von Herrn Professor Forster im Sommer und Herbst 1904 ausführte.

---

1) Forster, Nährgelatine mit hohem Schmelzpunkte. Zentralbl. f. Bakteriol., XXII, 1897.

2) C. C. van der Heide, Gelatinöse Lösungen und Verflüssigungspunkt der Nährgelatine. Archiv f. Hygiene, XXXI, 1897.

Bei der Ausführung meiner Untersuchungen bediente ich mich der von van der Heide zu diesem Zwecke angewandten, Wiley[1]) nachgebildeten Methode, welche bei der Anwendung von möglichst wenig Material eine scharfe Beobachtung des ganzen Vorganges bei der Schmelzung gestattet. Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, daſs man ein kleines Scheibchen Gelatine in einer gleichmäſsig erwärmten Flüssigkeit schweben läſst, die sich der Gelatine und namentlich ihrem Wassergehalte gegenüber indifferent verhält, und dann den Augenblick feststellt, in dem sich das Scheibchen in ein Kügelchen verwandelt. Diese indifferente Flüssigkeit, die dasselbe spezifische Gewicht wie die Gelatine besitzen muſs, erhält man, indem man zwei Flüssigkeiten von verschiedenen spezifischen Gewichten, und zwar die eine mit einem höheren, die andere mit einem niedrigeren wie das des zu untersuchenden Materiales, vorsichtig aufeinander schichtet. Alsbald entstehen, weil man Flüssigkeiten nehmen muſs, die sich untereinander mischen können, zwischen beiden verschiedene Lagen mit einer von unten nach oben abnehmenden Densität. Wirft man nun das Versuchsscheibcben in die Flüssigkeit, so wird dasselbe in der oberen, weniger dichten Schicht sinken, jedoch zum Schweben kommen in einer Tiefe, in der das spezifische Gewicht der Flüssigkeit der Densität des Scheibchens gleich ist. Diese Flüssigkeit stellte van der Heide sich her, indem er farbloses Petroleum vorsichtig auf Chloroform schichtete.

Während ich bei meinen Versuchen in derselben Weise verfuhr, wie sie van der Heide in seiner in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit genauer beschrieben hat, bin ich wegen der Erhitzung über 100° hinaus in der Darstellung der Gelatinescheibchen von seiner Vorschrift abgewichen. Ich stellte mir, um möglichst vollständig jede Wasserverdunstung und dadurch entstehende Änderung der Konzentration zu vermeiden, kleine, im Lichten etwa 3 mm messende Glasröhrchen her, welche mit der flüssigen, noch nicht sterilisierten Gelatinelösung gefüllt und

1) Wiley, Foods en Food adulterants. (Washington, Prins. off., 1889.)

darauf an beiden Enden zugeschmolzen wurden. Nach der Sterilisierung im Autoklaven wurden sie schnell abgekühlt und in dem Eisschranke aufbewahrt. Von jeder Probe bestimmte ich dann 4 Stunden, 24 Stunden und 8 Tage nach der Erstarrung den Verflüssigungspunkt. Zu diesem Zwecke zerschlug ich das Röhrchen, schuitt aus der Mitte der Gelatine ein uugefähr $^3/_4$ bis 1 mm dickes Scheibchen von 2 mm Durchmesser und brachte es in das Gefäfs mit Öl uud Chloroform.

Ich begann meine Versuche mit wässerigen, teils sauren, teils alkalischen Gelatinelösungen, welche ich mir auf folgende einfache Weise herstellte. In einem Kölbchen wurden 100 ccm destilliertes Wasser auf 50—60° C erhitzt und in dieser erwärmten Flüssigkeit 10 g Gelatine gelöst. Wenn ich mir eine alkalisch reagierende Lösung herstellen wollte, fügte ich danu 10proz. Sodalösung hinzu, bis sich rotes Lackmuspapier deutlich blau zu färben begann. Diese Art der Alkalisierung genügte für meine Zwecke vollkommen, die Reaktion war auch nach zweistündigem Verbleiben der Lösung in gespanntem Dampfe von 115° C noch erhalten. War die Lösung auf diese Weise hergestellt, so wurde sie noch in flüssigem Zustande nach der oben bereits beschriebenen Methode in die kleinen Glasröhrchen gefüllt und bis zu ihrer Verwendung im Eisschrank aufbewahrt. Zunächst bestimmte ich den Verflüssigungspunkt dieser nicht sterilisierten, in der Reaktion voneiuander verschiedenen Lösungen, indem ich von jeder nach 4 Stunden, 24 Stunden und 8 Tagen eine Probe zum Schmelzen brachte.

Die Ergebnisse waren folgende:

Nach	Saure Gelatine	Alkalische Gelatine
	° C	° C
4 Stunden	31,1	30,5
24 »	31,8	31,3
8 Tagen	32,5	32,0

Man ersieht zunächst den verschiedenen Einflufs, den die Reaktion der Lösung auf den Verflüssigungspunkt derselben hat.

Im Verlaufe meiner Bestimmungen hat mich dieses Ergebnis bewogen, diesem Punkte besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden und darüber genauere Untersuchungen zu machen, von denen späterhin die Rede sein soll.

Ferner weisen die obigen Versuche auf die Bedeutung hin, welche die Zeit nach dem Erstarren für den Schmelzpunkt der Gelatine hat. Je längere Zeit nach der Erstarrung verstrichen ist, einen desto höheren Verflüssigungspunkt hat die Gelatine bis zu einer gewissen Grenze, eine Tatsache, die schon van der Heide durch seine Bestimmungen festgestellt hat.

Nachdem ich mir durch diese Versuche eine Grundlage für spätere Vergleiche geschaffen hatte, ging ich zur Bestimmung des Schmelzpunktes der Gelatine über, welche über 100° C liegenden Temperaturen verschieden lange Zeit ausgesetzt wurde. Es wurden die teils mit saurer, teils alkalischer wässeriger 10 proz. Gelatinelösung gefüllten Glasröhrchen in den Autoklaven gebracht, nachdem das Wasser in demselben den Siedepunkt erreicht hatte. Dieses geschah mit der Absicht, die Zeit der Erwärmung bis zur gewünschten Temperatur möglichst abzukürzen, da, worauf auch van der Heide hinweist, schon in der Erwärmungszeit ein Teil der Gelatine peptonisiert wird. Alsdann wurde die Temperatur im Autoklaven auf 105° C, 107° C, 110° C, 112° C oder 115° C gebracht und die Röhrchen verschieden lange Zeit, 1/4 Stunde, 1/2 Stunde, 1 Stunde und 2 Stunden dem Dampfe ausgesetzt. War die bestimmte Zeit verflossen, so wurden je 5 Minuten nach dem Auslöschen der Flamme unter dem Autoklaven die Röhrchen herausgenommen, schnell abgekühlt, mit einer Etikette versehen, um Verwechslungen zu vermeiden, und in den Eisschrank gebracht. Die Bestimmung des Schmelzpunktes wurde dann nach der van der Heide-Wiley-schen Methode, wie bei den obigen Versuchen, 4 Stunden, 24 Stunden und 8 Tage nach der Erstarrung vorgenommen.

Die Resultate sind in Tabelle I auf der folgenden Seite angegeben.

Tabelle I.

a) Nach 4 Stunden:

Sterilisation Tempe-ratur	Sterilisation Dauer	Saure Gela-tine	Alkali-sche Gelat.
		° C	° C
105° C	1/4 Stunde	28,1	27,3
	1/2 »	27,5	26,5
	1 »	26,3	25,1
	2 Stunden	24,9	23,9
107° C	1/4 Stunde	27,6	26,8
	1/2 »	26,9	26,1
	1 »	26,0	24,3
	2 8tunden	23,7	22,7
110° C	1/4 Stunde	27,2	25,9
	1/2 »	26,5	25,4
	1 »	24,7	23,5
	2 Stuuden	23,1	21,6
112° C	1/4 Stunde	26,9	25,4
	1/2 »	25,6	24,5
	1 »	23,9	22,8
	2 Stunden	22,1	19,9
115° C	1/4 Stunde	26,6	24,8
	1/2 »	25,0	23,4
	1 »	23,6	21,1
	2 Stunden	21,7	18,9

b) Nach 24 Stunden:

Sterilisation Tempe-ratur	Sterilisation Dauer	Saure Gela-tine	Alkali-sche Gelat.
		° C	° C
105° C	1/4 Stunde	29,2	27,9
	1/2 »	28,7	27,4
	1 »	26,9	25,8
	2 Stunden	25,6	24,8
107° C	1/4 Stunde	28,4	27,4
	1/2 »	27,9	26,8
	1 »	26,7	25,2
	2 Stunden	24,2	23,5
110° C	1/4 Stunde	27,8	26,7
	1/2 »	27,0	26,1
	1 »	25,5	24,2
	2 Stunden	23,6	22,2
112° C	1/4 Stunde	27,6	26,1
	1/2 »	26,5	25,3
	1 »	24,8	23,4
	2 Stunden	23,1	20,9
115° C	1/4 Stunde	27,4	25,6
	1/2 »	25,9	24,1
	1 »	24,6	22,7
	2 Stunden	22,8	19,5

c) Nach 8 Tagen:

Sterilisation Tempe-ratur	Sterilisation Dauer	Saure Gela-tine	Alkali-sche Gelat.
		° C	° C
105° C	1/4 Stunde	29,6	28,6
	1/2 »	29,2	27,8
	1 »	27,8	26,5
	2 Stunden	26,2	25,4
107° C	1/4 Stunde	29,2	28,1
	1/2 »	28,4	27,4
	1 »	27,1	25,9
	2 Stunden	24,5	24,2
110° C	1/4 Stunde	28,7	27,6
	1/2 »	27,3	26,9

Sterilisation Tempe-ratur	Sterilisation Dauer	Saure Gela-tine	Alkali-sche Gelat.
		° C	° C
110° C	1 Stunde	25,9	24,5
	2 Stunden	23,9	22,6
112° C	1/4 Stunde	28,5	27,2
	1/2 »	27,1	26,1
	1 »	25,4	24,3
	2 Stunden	23,7	21,3
115° C	1/4 Stunde	28,1	26,5
	1/2 »	26,8	24,7
	1 »	25,5	23,3
	2 Stunden	23,7	19,8

Bei Betrachtung dieser Ergebnisse fällt auch hier wiederum deutlich der grofse Einflufs der Zeit auf, welcher den noch nicht peptonisierten Gelatineteilchen gestattet, sich zu einem festen Verbande zu ordnen; je länger die Zeit, um so fester ist dieser. Die Versuche lehren, dafs der Verflüssigungspunkt einer 24 Stunden alten Gelatine im Durchschnitt um 0,8° C höher liegt als der einer 4 Stunden alten, und dafs er nach Verlauf von 8 Tagen um weitere 0,6—0,7° C, im ganzen also um 1,5° C gestiegen ist. Dafs aber damit das Maximum noch nicht erreicht ist, zeigte mir eine Bestimmung, welche ich an einer von Professor Forster im Februar 1901 hergestellten und in zugeschmolzenem Röhrchen bewahrten 10 proz. Gelatinelösung zu machen Gelegenheit hatte. Die Lösung war damals 1/4 Stunde bei 100° C sterilisiert worden und verflüssigte nach einmal wiederholtem Schmelzen und Erstarren und 20 stündigem Bewahren im Eisschrank bei 28,7° C. Jetzt, nach Verlauf von 3 1/2 Jahren, lag der Schmelzpunkt bei 30,7° C, es hatte also in dieser Zeit eine Zunahme der Verflüssigungstemperatur um 2° C stattgefunden.

Dies ist von nicht zu unterschätzender Bedeutung auch für die bakteriologischen Arbeiten, weil die eventuelle Verflüssigung der Gelatine, die längere Zeit vor der Impfung sterilisiert und aufbewahrt wurde, sich anders verhält, als wenn sie direkt nach dem Erstarren gebraucht wird.

Aus den Resultaten geht ferner hervor der grofse Einflufs, den die Temperaturhöhe und die Dauer der Sterilisation auf den Schmelzpunkt der Gelatine haben. Je höher die Temperatur ist und je länger sterilisiert wird, um so gröfser ist der Abfall, den die Verflüssigungstemperatur der Gelatine erleidet. Dabei ist wohl zu bemerken, dafs dieses Abnehmen der Schmelztemperatur nicht allmählich erfolgt, sondern vornehmlich in der ersten Viertelstunde der Sterilisation vor sich geht, und zwar um so gröfser ist, je höher die einwirkende Temperatur. So ist beispielsweise der Schmelzpunkt einer 4 Stunden alten 10 proz. sauren Gelatine, wie aus der Tabelle Ia hervorgeht, nach viertelstündiger Erhitzung bei 105° C von 31,1° C auf

28,1° C gesunken, nach zweistündiger Erhitzung von 31,1° C auf 24,9 C. In der ersten Viertelstunde der Sterilisation bei 105° C ist also der Schmelzpunkt der Gelatine um ganze 3° C gefallen, in den folgenden 1 3/4 Stunden aber nur um 3,2° C, das heifst, dafs bei zweistündiger Sterilisation der Abfall der Verflüssigungstemperatur der Gelatine in der ersten Viertelstunde sechsmal so grofs ist wie in jeder der noch folgenden sieben Viertelstunden. Berücksichtigt man ferner noch die Schmelztemperaturen nach halbstündiger und einstündiger Erhitzung, so sieht man, dafs, abgesehen von der ersten Viertelstunde, in der ersten Stunde der Temperaturabfall pro Viertelstunde 0,6° C beträgt, in der zweiten Stunde dagegen durchschnittlich nur 0,3° C, das heifst, dafs die Schmelztemperatur in jeder Viertelstunde der ersten Stunde gerade noch einmal so viel abnimmt wie in der zweiten Stunde. Ähnlich verhalten sich auch die Schmelztemperaturen, welche nach Erhitzung bei 107° C, 110° C, 112° C und 115° C resultieren, nur dafs hier, entsprechend der höheren Temperatur, auch der Abfall des Verflüssigungspunktes gröfser ist.

Die Tatsache, dafs die Peptonisierung der Gelatine hauptsächlich in der ersten Viertelstunde der Sterilisation erfolgt und zwar um so energischer, je höher die einwirkende Temperatur ist, hat eine praktische Bedeutung für die Bereitung der Nährgelatine. Einerseits lehrt sie, da wir doch einmal, um eine keimfreie Gelatine zu erhalten, auf eine Temperatur von mindestens 100° C angewiesen sind, dafs es nicht empfehlenswert ist, die Erhitzungszeit übermäfsig einzuschränken, um dadurch eventuell eine höher schmelzende Gelatine darzustellen. Der Gewinn bei diesem Verfahren würde ein relativ nur geringer und die Aussicht, eine sterile Gelatine zu erhalten, mindestens stark in Frage gestellt sein. Anderseits aber zeigt dieses Ergebnis, dafs es nicht zweckmäfsig ist, zur Sterilisierung der Gelatine über 100° C liegende Temperaturen anzuwenden, da die Höhe der Temperatur auch bei kurzer Einwirkungsdauer doch schon genügt, den Schmelzpunkt der Gelatine bedeutend mehr zu erniedrigen, als dieses bei einer längeren Sterilisation bei 100° C der Fall sein würde. Während z. B. eine 10 proz. alkalische Gelatinelösung,

welche ¼ Stunde bei 110° C erhitzt worden ist, nach 24 Stunden schon bei 26,7° C schmilzt (vgl. Tabelle I b), liegt der Verflüssigungspunkt einer Gelatinelösung von der gleichen Konzentration, die 40 Minuten bei 100° C erwärmt worden ist, nach 24 Stunden bei 28,4° C (vgl. Tabelle II), es besteht mithin eine Differenz von fast 2° C.

Nicht weniger interessant ist der Einfluſs, den die Reaktion auf die Verflüssigungstemperatur der Gelatine hat. Van der Heide kommt bei seinen Untersuchungen zu dem Resultate, daſs die Reaktion, sofern man bei der für die Nährgelatine üblichen Grenze bleibt, keinen nennenswerten Einfluſs auf die Erniedrigung des Schmelzpunktes habe. Indessen erklärt sich diese Annahme aus der Tatsache, daſs er das Verhalten der Gelatine nach dieser Richtung hin nur bei einer Temperatur von 100° C prüfte, wo in der Tat der Unterschied kein bedeutender zu sein pflegt. Professor Forster aber hegte schon damals die Vermutung, daſs auch dieser Punkt nicht ohne Bedeutung wäre, hatte jedoch bisher keine näheren Bestimmungen darüber angestellt. Durch meine Versuche ist es mir nun gelungen, die Beweise hierfür zu liefern.

Aus den Ergebnissen geht deutlich hervor, daſs die Reaktion keineswegs ohne Bedeutung für die Verflüssigungstemperatur der Gelatine ist. Vielmehr hat die saure Gelatine durchweg einen höheren Schmelzpunkt als die der gleichen Temperatur ausgesetzte alkalische, und zwar ist dieser Unterschied um so gröſser, je höher die Temperatur ist, bei der die Gelatine sterilisiert wurde. Während er beispielsweise bei 104° C Sterilisationstemperatur meist nur 1° C beträgt, wächst er bei 112° C und 115° C auf 1,5—2° C, so daſs sich daraus im Durchschnitt eine Differenz von ungefähr 1,4° C ergibt.

Diese interessante Tatsache veranlaſste mich, eingehendere Untersuchungen auch nach dieser Richtung anzustellen. Zu dem Zwecke füllte ich sechs Erlenmeyersche Kölbchen mit je 100 ccm einer 10proz. sauren Gelatinelösung. Das erste behielt seine saure Reaktion, das zweite neutralisierte ich mit Normalnatronlauge, indem ich Phenolphthalein als Indikator benutzte,

die übrigen vier alkalisierte ich bis 0,1 %, 0,2 %, 0,5 % und 1,0 % Normalnatronlauge über dem Phenolphthalein-Neutralpunkte. Darauf bestimmte ich den Schmelzpunkt einer jeden Lösung 4 Stunden und 24 Stunden nach dem Erstarren in nicht sterilisiertem Zustande, nach einer Erhitzung von 40 Minuten bei 100° C und nach einer ebenso langen Erhitzung bei 110° C. In allen Fällen fand ich, dafs auch bei 110° C die Reaktion gut erhalten blieb.

Die Ergebnisse waren folgende:

Tabelle II.

Reaktion	Sterilisation		Schmelzpunkt nach	
	Temp.	Dauer	4 Stunden	24 Stunden
	° C		° C	° C
Sauer	0	0	31,1	31,8
	100	40 Minuten	28,5	29,3
	110	»	26,2	26,9
Neutral	0	0	30,8	31,4
	100	40 Minuten	28,1	28,8
	110	»	25,7	26,4
0,1 % Na OH	0	0	30,6	31,3
	100	40 Minuten	27,7	28,4
	110	»	25,2	25,9
0,2 % Na OH	0	0	30,5	31,2
	100	40 Minuten	27,4	28,1
	110	»	24,8	25,5
0,5 % Na OH	0	0	30,3	31,1
	100	40 Minuten	27,1	27,8
	110	»	23,9	24,8
1,0 % Na OH	0	0	30,1	30,8
	100	40 Minuten	26,6	27,3
	110	»	22,6	23,7

Diese Ergebnisse zeigen aufs neue wieder die Erniedrigung der Verflüssigungstemperatur der Gelatine durch Erhöhung der Sterilisationstemperatur und das Ansteigen nach 24 Stunden; vor allem aber geht aus ihnen deutlich der Einflufs der Reaktion auf den Schmelzpunkt der Gelatinelösung hervor.

Während bei der nicht sterilisierten Gelatine der Unterschied zwischen saurer und alkalischer ein minimaler ist, steigt er bei 100° C nicht unbedeutend an, um dann bei 110° C eine beträchtliche Gröfse zu erreichen. Wenn man annimmt, dafs die in den bakteriologischen Instituten gebräuchliche Nährgelatine eine Alkalinität von ungefähr 0,1% Normalnatronlauge über dem Phenolphthalein-Neutralpunkte hat, so würde das nach einer 40 Minuten langen Erhitzung auf 100° C gegenüber der sauren Gelatine eine Differenz von fast 1° C, bei einer Gelatinelösung, die eine Alkalinität von 0,5% Normalnatronlauge über dem Phenolphthalein-Neutralpunkte hat, einen Unterschied von 1,5° C bedeuten.

Dafs dieser Punkt bei bakteriologischen Untersuchungen Berücksichtigung verdient, folgt aus der bekannten Tatsache, dafs manche Mikroben, wie z. B. der Cholerabazillus, stark alkalische Nährböden bevorzugen, während viele andere Bakterien, nach Schlüters[1]) Untersuchungen sogar der Milzbrandbazillus, auch auf sauren Nährböden fortkommen. In der Regel wird man natürlich, wie bisher auch immer, die Nährgelatine schwach alkalisieren, da, wie Fraenkel[2]) schreibt, die Bakterien, wenigstens in ihrer überwiegenden Mehrzahl, noch Anspruch darauf machen, dafs der betreffende Nährstoff alkalische oder zum mindesten neutrale Reaktion aufweist; doch ist bei den möglichen Ausnahmefällen auf die vorstehende Tatsache bei der Verwendung der Nährgelatine wohl zu achten.

Es ist schon erwähnt worden, dafs die Erwärmungszeit, d. h. die Zeit, welche bis zur Erreichung der gewünschten Sterilisationstemperatur vergeht, nicht ohne Einflufs auf den Schmelzpunkt der Gelatine bleibt. Um auch für diese Annahme einen zahlenmäfsigen Beweis zu erbringen, verglich ich die Verflüssigungsgrade von zwei 10proz. schwach alkalischen Gelatinelösungen, von denen die eine in den Autoklaven gebracht wurde, nachdem das Wasser in demselben den Siedepunkt schon erreicht hatte,

1) Schlüter, Das Wachstum der Bakterien auf sauren Nährböden. Zentralbl. f. Bakteriol., XI, 1892.

2) Fraenkel, Grundrifs der Bakterienkunde, 1887 u. 1890.

während sich die andere die ganze Zeit der Wassererwärmung in dem geschlossenen Autoklaven befand. Nach 24 Stunden lag der Schmelzpunkt der ersteren Lösung bei 28,4° C, derjenige der letzteren dagegen bei 27,9° C, es bestand mithin zwischen den beiden Verflüssigungspunkten eine Differenz von 0,5° C. Obschon diese Zahl an sich nur einen geringen Wert repräsentiert, so darf doch auch dieser Gesichtspunkt bei der regelrechten Bereitung einer hochschmelzenden Nährgelatine nicht vernachlässigt werden.

Schliefslich habe ich, ähnlich wie van der Heide, eine Reihe von Untersuchungen über den Einflufs gemacht, welchen der Gelatinegehalt auf den Schmelzpunkt hat. Ich stellte mir zu dem Zwecke eine 5proz. und eine 20proz. alkalische Gelatinelösung her, deren Schmelzpunkte ich zunächst in nicht sterilisiertem Zustande nach Verlauf von 4 Stunden, 24 Stunden und 8 Tagen bestimmte. Ich erhielt dabei folgende Resultate:

Nach	5 %	20 %
	° C	° C
4 Stunden	29,8	31,9
24 »	30,5	32,6
8 Tagen	31,0	33,2

Man sieht aus diesen Ergebnissen, dafs innerhalb der angegebenen Grenzen der Unterschied in der Konzentration nur in relativ geringem Mafse den Schmelzpunkt der Gelatinelösung beeinflufst, eine Tatsache, welche durch die weiteren Versuche ihre Bestätigung erhalten sollte. Wenn man die Verflüssigungsgrade mit den entsprechenden einer 10proz. Lösung vergleicht, so sieht man, dafs der Schmelzpunkt einer 5proz. Lösung etwa 0,8° C unter und der einer 20proz. im Durchschnitt 1,3° C über dem Verflüssigungspunkt einer 10proz. Lösung liegt.

Bei meinen weiteren Versuchen verfuhr ich genau nach der früher beschriebenen Weise und erhielt dabei die in Tabelle III angegebenen Resultate.

Tabelle III.

a) Nach 4 Stunden:

Sterilisation		5 %	20 %
Temperatur	Dauer		
		° C	° C
105° C	1/4 Stunde	27,0	28,6
	1/2 »	26,3	27,8
	1 »	24,8	26,5
	2 Stunden	22,6	25,2
107° C	1/4 Stunde	26,2	27,9
	1/2 »	25,4	27,1
	1 »	23,8	25,6
	2 Stunden	21,7	24,1
110° C	1/4 Stunde	25,4	27,6
	1/2 »	24,5	26,6
	1 »	22,9	24,7
	2 Stunden	20,2	23,3
112° C	1/4 Stunde	24,6	27,1
	1/2 »	23,6	26,0
	1 »	21,9	24,3
	2 Stunden	—	22,6
115° C	1/4 Stunde	23,8	26,3
	1/2 »	22,7	25,2
	1 »	—	22,9
	2 Stunden	—	21,3

b) Nach 24 Stunden:

Sterilisation		5 %	20 %
Temperatur	Dauer		
		° C	° C
105° C	1/4 Stunde	27,6	29,4
	1/2 »	27,2	28,5
	1 »	25,6	27,1
	2 Stunden	23,8	25,9
107° C	1/4 Stunde	27,1	28,8
	1/2 »	26,3	27,8
	1 »	24,6	26,4
	2 Stunden	22,6	24,8
110° C	1/4 Stunde	26,3	28,4
	1/2 »	25,5	27,2
	1 »	23,7	25,7
	2 Stunden	21,3	24,1
112° C	1/4 Stunde	25,5	27,8
	1/2 »	24,5	26,8
	1 »	22,9	25,2
	2 Stunden	—	23,5
115° C	1/4 Stunde	24,6	27,0
	1/2 »	23,4	25,9
	1 »	21,1	24,2
	2 Stunden	—	22,4

c) Nach 8 Tagen:

Sterilisation		5 %	20 %
Temperatur	Dauer		
		° C	° C
105° C	1/4 Stunde	28,3	30,0
	1/2 »	27,6	29,1
	1 »	26,1	27,6
	2 Stunden	24,5	26,6
107° C	1/4 Stunde	27,8	29,6
	1/2 »	26,8	28,7
	1 »	25,3	27,1
	2 Stunden	23,4	25,6
110° C	1/4 Stunde	27,1	29,0
	1/2 »	26,2	28,0

Sterilisation		5 %	20 %
Temperatur	Dauer		
		° C	° C
110° C	1 Stunde	24,3	26,9
	2 Stunden	21,8	25,0
112° C	1/4 Stunde	26,3	28,7
	1/2 »	25,2	27,6
	1 »	23,5	26,1
	2 Stunden	—	24,5
115° C	1/4 Stunde	25,3	27,8
	1/2 »	24,2	26,5
	1 »	21,9	25,1
	2 Stunden	—	23,5

Aus diesen Ergebnissen geht zunächst hervor, dafs auch bei höherem oder geringerem Gelatinegehalt als 10% mit steigender Temperaturhöhe und Dauer der Sterilisation der Schmelzpunkt sinkt und um so mehr wieder ansteigt, je länger die nach der Erstarrung verflossene Zeit ist. Ebenso wie bei einer 10proz. Gelatinelösung, erfolgt auch hier der Abfall der Verflüssigungstemperatur am stärksten in der ersten Viertelstunde der Sterilisation, um dann allmählich abzunehmen, und beträgt das Ansteigen des Schmelzpunktes in den ersten 24 Stunden ungefähr 0,8° C, in den ersten 8 Tagen im Durchschnitt weitere 0,6 bis 0,7° C.

Ferner zeigen die Resultate, dafs auch hier die Verhältnisse nahezu ebenso liegen wie bei einer nicht sterilisierten Lösung, insofern als der Schmelzpunkt einer 5proz. Lösung im Durchschnitt um 0,7° C tiefer und derjenige einer 20proz. durchschnittlich um 1,5° C höher liegt als der Verflüssigungspunkt einer entsprechend behandelteu 10proz. Gelatinelösung.

Während die 20proz. Gelatinelösung immer von fester Beschaffenheit war, war mir bei der 5proz. die geringe Konsistenz auffallend, in einigen Fällen wurde sogar die Erstarrung sehr verzögert oder blieb ganz aus (in der Tabelle III durch — bezeichnet), obwohl die Glasröhrchen gleich in den Eisschrank gebracht worden waren. So ist z. B. die Erstarrungsfähigkeit einer 5proz. Gelatinelösung, welche 1 Stunde bei 115° C erhitzt worden ist, in dem Grade herabgesetzt, dafs sie nach 4 Stunden noch flüssig und erst nach Verlauf von 24 Stunden wieder erstarrt ist. Wird nun die gleiche Lösung 2 Stunden lang bei 112° oder 115° C sterilisiert, so ist sie noch nach 8 Tagen flüssig, hat also offenbar ihre charakteristische Eigenschaft, zu gelatinieren, vollständig eingebüfst. Überhaupt war, wie schon erwähnt, die Konsistenz einer 5proz. Lösung durchweg geringer als die einer 10- oder 20proz. Lösung, eine Tatsache von Bedeutung für die Wahl des Gelatinegehaltes bei Bereitung des Nährbodens, wie weiter unten erörtert werden soll.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle in Kürze die im Laufe meiner Untersuchungen gemachten Erfahrungen, welche bei der

Bereitung der Nährgelatine zweckmäfsig in Rechnung gebracht werden müssen, zusammenzustellen:

1. Je höher die Temperatur ist und je länger erhitzt wird, um so gröfser ist der Abfall, den die Verflüssigungstemperatur der Gelatine erleidet.
2. Das Sinken des Schmelzpunktes erfolgt am stärksten in der ersten Viertelstunde der Sterilisation und ist um so bedeutender, je höher die Temperatur ist. Bei zweistündiger Sterilisation ist diese Erniedrigung in der ersten Viertelstunde sechsmal so grofs wie in jeder der noch folgenden sieben Viertelstunden.
3. Bei zweistündiger Sterilisation ist, abgesehen von der ersten Viertelstunde, der Abfall in jeder Viertelstunde der ersten Stunde doppelt so grofs wie in jeder Viertelstunde der zweiten Stunde.
4. Die Reaktion beeinflufst die Verflüssigungstemperatur der Gelatinelösung in dem Sinne, dafs mit steigender Alkalität der Schmelzpunkt entsprechend sinkt. Das Absinken ist bei nicht sterilisierter Gelatine unbedeutend, bei der Sterilisation dagegen wächst es mit dem Steigen der Temperatur zu einer beträchtlichen Gröfse an.
5. In der Anwärmungszeit wird bereits ein geringer Bruchteil der Gelatine peptonisiert.
6. Mit wachsender Konzentration der Gelatinelösung steigt der Schmelzpunkt, mit abnehmender sinkt er. Doch ist die Differenz relativ nur gering und steht in keinem Verhältnis zu dem Unterschied im Gelatinegehalt; zwischen einer 5 proz. und 10 proz. Lösung beträgt sie im Durchschnitt 0,8° C, zwischen einer 10 proz. und 20 proz. etwa 1,3° C.
7. Die 10 proz. und 20 proz. Gelatinelösungen zeigen immer eine feste Konsistenz, bei den 5 proz. dagegen ist, besonders nach lange dauernder Sterilisation, eine auffallende Herabsetzung der Erstarrungsgeschwindigkeit wahrnehmbar. Eine 2 Stunden lang bei 112° oder 115° C

erhitzte 5proz. Gelatinelösung ist sogar nach 8 Tagen noch flüssig, hat also ihre Erstarrungsfähigkeit offenbar gänzlich verloren.

Diese Ergebnisse bestätigen also und erweitern die bereits zum Teil von van der Heide gemachten Erfahrungen. Daſs es gestattet ist, die Folgerungen, welche aus den an wässerigen Gelatinelösungen gemachten Bestimmungen gezogen worden sind, auch auf die Bouillongelatinelösungen auszudehnen, geht aus den Versuchen van der Heides, der auch nach dieser Richtung Untersuchungen angestellt hat, ohne weiteres hervor. Da es sich nämlich bei den wässerigen und Bouillongelatinelösungen höchstens um geringfügige Schwankungen der Verflüssigungstemperaturen, welche durch den Gehalt der Bouillon an Salzen, Pepton usw. begründet sind, nicht aber um prinzipielle Unterschiede im Verhalten der beiden Lösungen handelt, glaube ich berechtigt zu sein, aus den obigen Ergebnissen meiner Bestimmungen die Schlüsse auch für die zweckmäſsige Bereitung der Nährgelatine ziehen zu dürfen.

Welche Gesichtspunkte hat man also bei der Darstellung der Nährgelatine zu berücksichtigen? — Aus den obigen Untersuchungen geht zur Genüge hervor, daſs über 100° C liegende Temperaturen zum Sterilisieren nicht zu empfehlen sind, da sie eine zu starke Peptonisierung der Gelatine und rapide Erniedrigung des Schmelzpunktes auch bei kurzer Einwirkungsdauer zur Folge haben. Am besten erhitzt man deshalb die Lösung nur auf 100° C.

Es fragt sich jetzt aber, wie lange die Gelatine sterilisiert werden soll? Auch diese Frage ist als gelöst zu betrachten, seitdem Levy und Bruns[1]) das Vorkommen von Tetanuskeimen in der käuflichen Gelatine nachgewiesen — ein Befund, der später auch durch Schmiedicke[2]) bestätigt wurde — und

1) Levy und Bruns, Über den Gehalt der käuflichen Gelatine an Tetanuskeimen. Deutsche med. Wochenschr., XXVIII, 1902.

2) Schmiedicke, Weiteres über Tetanuskeime in der käuflichen Gelatine. Deutsche med. Wochenschr., XXVIII, 1902.

durch ihre Versuche[1]) gezeigt haben, dafs erst oberhalb einer Frist von 30 Minuten im strömenden Wasserdampfe jedes Wachstum dieser resistenten Lebewesen aufhöre. Um also eine keimfreie Gelatine zu erhalten, ist eine Sterilisation von 35—40 Minuten bei 100° C unbedingt geboten. Selbstverständlich ist dabei Professor Forsters Vorschrift, dafs die zur Nährgelatinebereitung dienende Löfflersche Bouillon und alle in Anwendung kommenden Gerätschaften, insbesondere auch die Kulturröhrchen, schon vorher sorgfältig sterilisiert werden müssen, auf das peinlichste zu beachten, da die 35—40 Minuten dauernde Erhitzung auf 100° C lediglich zur Sterilisation der Gelatine selbst dienen soll.

Schwieriger ist die Frage zu beantworten, welcher Prozentgehalt an Gelatine dem Nährboden zu geben ist. Der Gebrauch der 10proz. Nährgelatine ist keineswegs wissenschaftlich begründet, sondern lediglich eine Erfahrungssache. Es würde zum Nachweise, ob nicht vielleicht Nährböden mit einem höheren oder niedrigeren Gelatinegehalt als 10%, zugleich aber auch mit einem über 25° C liegenden Verflüssigungspunkte bessere Bedingungen für das Wachstum der Bakterien bieten als die 10proz. Nährgelatine, besonderer umfassender Untersuchungen bedürfen, welche die Grenzen meiner Arbeit weit überschreiten würden. Jedenfalls wachsen nach den Erfahrungen von Professor Forster im Amsterdamer und im hiesigen hygienischen Institute eine Reihe von Bakterienarten schon kümmerlich in Löfflerscher Bouillon mit 20% Gelatine. Eine 20proz. Gelatinelösung hat zwar einen etwas höheren Schmelzpunkt als eine 10proz., dem gegenüber aber steht der relativ grofse Mehrverbrauch an Material und die immerhin schwierige Filtration der dickflüssigen Masse. Die Anwendung einer 5proz. Lösung hat umgekehrt einen geringeren Verbrauch, aber auch eine Erniedrigung des Schmelzpunktes und eine bedeutend geringere Konsistenz zur Folge. Demgemäfs ist die Verwendung der in den meisten Laboratorien benutzten 10proz. Nährgelatine am zweckmäfsigsten.

1) Levy und Bruns, Gelatine und Tetanus. Resistenzfähigkeit der Tetanussporen. Sterilisation der Gelatine. Mitteil. aus d. Grenzgeb. d. Chir. u. Med., X, 1902.

Untersuchungen über die im „Clayton-Apparat" erzeugten Schwefeldämpfe.

Von

Marinestabsarzt Dr. H. Trembur,
Assistenten des Instituts.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

In dem Bestreben, die Pest, die ja durch den Schiffsverkehr, speziell durch die Schiffsratten, verschleppt wird, von den Ländern fern zu halten, sind gerade in den letzten Jahren die Hafenbehörden der Kulturländer aufserordentlich tätig gewesen. Besonders in den grofsen Hafenplätzen des Weltverkehrs sind Organisationen geschaffen, die eine genaue gesundheitliche Kontrolle aller im Hafen befindlichen Schiffe ermöglichen, und die Gewähr dafür bieten, dafs infiziert befundene abgesondert und gründlicher Desinfektion unterzogen werden.

Über die Art, wie diese Desinfektion am wirksamsten ausgeführt werden soll, gehen die Ansichten auseinander. Als ideales Desinfiziens kommt nur ein Gas in Betracht, welches die Räume, auch wenn sie volle Ladung enthalten, gleichmäfsig und schnell durchdringen kann, und zwar in solcher Konzentration, dafs Mikroorganismen sowohl wie Ungeziefer, speziell Ratten, sicher abgetötet werden, ohne dafs die Ladung oder der Schiffskörper dadurch Schaden erleidet, und ohne dafs durch lange Dauer der notwendigen Mafsregeln empfindliche Verluste für den Besitzer entstehen. Leichte und billige Herstellung des Gases

in genügend grofser Menge ist Voraussetzung. Dieses ideale Mittel kennen wir bis heute nicht, und so sind wir darauf angewiesen, von dem Unvollkommenen das Beste unserem Zwecke dienstbar zu machen. Formaldehyddämpfe, die in der Wohnungsdesinfektion so Vortreffliches leisten, kommen schon deshalb nicht in Frage, weil sie von Ratten und anderem Ungeziefer in erheblicher Konzentration vertragen werden. Nocht[1]) in Hamburg hat in Gemeinschaft mit Giemsa das Generatorgas zur Vernichtung von Ratten an Bord von Schiffen empfohlen und mit dessen Anwendung stets guten Erfolg gehabt, indem Ratten auch in den entlegensten Winkeln schnell getötet wurden. Da das Gas weder die Ladung noch die Schiffswände irgendwie beschädigt — dieses wurde durch von der Hamburger Handelskammer vorgeschlagene Sachverständige festgestellt —, uud die Kosten des Verfahrens bei allgemeiner Einführung verhältnismäfsig gering sein werden, so dürfte es in Zukunft häufig benutzt werden, um Schiffe rattenfrei zu machen und dadurch die oft recht erheblichen Beschädigungen der Fracht durch diese gefräfsigen Nager zu vermeiden. Sind die Ratten mit Pest infiziert, so mufs sich nach der heute immer noch zu Recht bestehenden Anschauung eine gründliche Desinfektion der Ladung und der Räume anschliefsen, da Kohleuoxyd und Kohlensäure, die Hauptbestandteile des Generatorgases, in den angewandten Mengeverhältnissen nicht bakterizid wirken und die von den Ratten durch Kot und Harn ausgeschiedenen Pestkeime unbeeinflufst bleiben. Wenn es auch durch eine Reihe von Laboratoriumsversuchen wahrscheiulich geworden ist, dafs diese Keime, die sehr wohl der Ladung anhaften können, für eine Weiterverbreitung der Seuche unter den Ratten weniger Bedeutung haben, einmal weil sie gegen äufsere Eiuflüsse, wie Eintrocknung, wenig widerstandsfähig, dann weil sie, so ausgestreut, in zu geringer Menge vorhanden sind, um Frefspest zu erzeugen, wird dadurch ihre Infektionsfähigkeit für den Menschen nicht gemindert.

1) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, XX. Bd. Über die Vernichtung von Ratten an Bord von Schiffen als Mafsregel gegen die Einschleppung der Pest. Von Nocht und G. Giemsa.

R. Otto[1]) hat im Rattenkot, der bei einer Temperatur von 22° gehalten war, nach 1 Tag, bei 6° noch nach 3 Tagen virulente Pestbazillen gefunden, und in einer Mischung von Rattenkot, Getreide und Pestkultur, die mit Bouillon durchfeuchtet war, hat er sie nach 5 bzw. 9 Tagen uachgewiesen. In Kobe gelang 1899 der Nachweis lebender Pestbazillen in den Abfällen eines Schiffes, nach dessen Entladung Pest unter den Arbeitern aufgetreten war. Somit dürfte also wohl eine regelrechte Desinfektion von Schiffen mit Rattenpest gerechtfertigt sein, auch wenn die Ratten vernichtet sind. Ob die den Ratten anhaftenden Insekten (Flöhe, Läuse) durch Generatorgas abgetötet werden, ist meines Wissens von Nocht nicht angegeben. Bleiben sie am Leben, so ist eine Verschleppung der Pestkeime durch sie nicht auszuschliefsen, selbst wenn auch ihre direkte Vermittlerrolle von den Ratten zu den Menschen nicht allgemein anerkannt wird.

Die Vorteile des Generatorgases mit der Fähigkeit, Mikroorganismen und Insekten sicher abzutöten, sollen die im Clayton-Apparat erzeugten Schwefeldämpfe vereinen. Ferner sollen sie wegen ihres durchdringenden Geruches weniger gefährlich für Menschen sein als das völlig geruchlose Generatorgas, bei dessen Anwendung die Schiffe von Menschen verlassen sein müssen.

Der Clayton-Apparat besteht aus einem eisernen Kessel, in welchem Stückschwefel verbrannt wird. Die zur Unterhaltung der Verbrennung nötige Luft wird durch ein Rootgebläse von aufsen her in den Kessel gesaugt und dann mit Schwefeldämpfen beladen nach Abkühlung in einer Wasserkühlvorrichtung unter Druck in den zu desinfizierenden Raum hineingeblasen. Durch diese Anordnung wird einmal ein hoher Gehalt der Luft an schwefliger Säure erreicht, wie er bei der gewöhnlichen Verbrennung des Schwefels in offener Pfanne nie erzielt werden kann, bei der ja die entstehenden Schwefeldämpfe selbst der weiteren Verbrennung ein Ende machen, und zweitens wird durch die Wasserkühlung die Temperatur der Dämpfe so herabgesetzt, dafs eine störende Kondensation im Raume hintangehalten wird. Durch

1) R. Otto, Über die Lebensdauer und Infektiosität der Pestbazillen in den Kadavern der Pestratten. Festschrift zum 60. Geburtst. v. R. Koch.

Absaugen der zur Verbrennung des Schwefels nötigen Luft aus dem zu desinfizierenden Raum, so lange sie nicht mehr als 1—2% SO_2 enthält, soll eine gleichmäfsige Verteilung der schwereren Schwefeldämpfe beschleunigt, ihre Penetrationsfähigkeit erhöht werden.

Die Apparate werden in verschiedenen Gröfsen hergestellt. Sie können als feste Anlagen am Kai aufgestellt werden, wo Vorrichtungen zum bequemen Festmachen der Schiffe getroffen sind, oder sie werden auf einer Lori oder einem Dampfboot montiert, mit welchem sie an den Liegeplatz des Schiffes herangefahren werden, und endlich werden sie auf grofsen Dampfern eingebaut, so dafs sie zur ständigen Verwendung bereit stehen. Uns wurden die zu den Versuchen notwendigen Apparate in entgegenkommender Weise von der »Norddeutschen Maschinen- und Armaturenfabrik« in Bremen zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle nicht verfehlen wollen, unseren Dank auszusprechen.

Besonders französische Forscher, Calmette und Hautefeuille[1]), E. David und G. Duriau[2]), Calmette und Rolants[3]), treten für die Vorzüge des »Claytongases« ein und empfehlen es für wiederholte, eventuell nach jedesmaligem Verlassen eines verseuchten Hafens vorzunehmende Desinfektion.

Sie begründen dieses mit Folgendem:

1. Bei einem Gehalt der Luft von 5% SO_2 werden Ratten, Mäuse, Kakerlaken, Flöhe, Wanzen, Stechmücken usw. sicher getötet.
2. Bei 8% werden Typhus-Cholera-Pestbazillen vernichtet, während die Wirkung auf Diphtherie- und Tuberkelbazillen, vor allem Sporen, eine unsichere ist oder ganz ausbleibt.
3. Auf den Schiffskörper, auf die verschiedensten Waren, wie Reis, Kakao, Kaffee, auf das Möblement und die

1) Calmette et Hautefeuille, Rapport sur la désinf. par le procédé Clayton à bord des navires. Rev. d'hyg. et pol. sanit. 1902.

2) David et Duriau, Etat actuell de la désinf. des navires etc. l. c. 1903.

3) Calmette et Rolants, Sur la valeur désinf. de l'acide sulfureux etc. l. c.

Schiffsmaschinen etc. übt es keinen dauernd schädigenden Einflufs aus.

4. Die Desinfektion kann vorgenommen werden, ohne dafs Passagiere und Mannschaften auszusteigen brauchen, und
5. beansprucht sie nicht länger als 4—5 Stunden.

Die grofse Bedeutung, welche den vorliegenden Fragen in praktischer Beziehung zukommt, hat Herrn Geheimrat Rubner veranlafst, mich mit der Prüfung der Wirkung der Claytondämpfe zu beauftragen. Nur bei seiner ständigen Unterstützung mit Rat und Tat war es möglich, die Schwierigkeiten und Unbequemlichkeiten aus dem Wege zu räumen, die ein Experimentieren mit grofsen Mengen SO_2 mit sich bringt, besonders in einem Laboratorium, das so dicht von Wohnhäusern umgeben war, wie das alte hygienische Institut in der Klosterstrafse. Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meinen ergebenen Dank hierfür auszudrücken.

Die Versuche wurden in dem 110 cbm grofsen, im zweiten Stockwerk des Museums gelegenen Desinfektionszimmer ausgeführt. Dieses besitzt nur ein Fenster, welches nach dem Hof des benachbarten Gerichtsgebäudes sieht, und das durch eine besondere Zugvorrichtung von Innen her geöffnet werden konnte, damit eine Unterbrechung des Versuches zu jeder Zeit möglich war. Von den zwei Türen war die dem Fenster gegenüberliegende fest geschlossen und abgedichtet. Vor ihr stand der Clayton-Apparat. Unten und oben war sie durch ein Blechrohr von 4,5 cm lichter Weite durchbrochen, von welchem das untere der Zuleitung der Schwefeldämpfe in den Versuchsraum diente, während das obere ein Absaugen der Zimmerluft in den Verbrennungsherd ermöglichen sollte. Durch zwei Glasfenster, die in einer Höhe von 1½ m über dem Boden eingesetzt waren konnte das Innere des Zimmers übersehen werden. Die seitliche Tür wurde jedesmal nach Auslegen der Testobjekte durch Papier verklebt.

Als Testobjekte dienten ca. 1,5 cm lange Seidenfäden, die ½ Stunde lang mit 24stündigen Bouillonkulturen von Typhus,

Cholera, Prodigiosus und Staphylokokken durchtränkt, dann zwischen sterilem Fliefspapier $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° getrocknet waren. Die Cholerafäden wurden nur zwischen Fliefspapier abgedrückt, da sie eine stärkere Austrocknung nicht vertrugen. Die verwandten Milzbrandsporenfäden wurden durch strömenden Wasserdampf von 100° erst nach $2\frac{1}{2}$ Minuten abgetötet.

Die Dauer eines jeden Versuchs betrug ca. 5 Stunden.

Zur Feststellung des Gehaltes der Luft an SO_2 benutzte ich nach Vorschlag des Herrn Professor Dr. H. Wolpert, der in dankenswerter Weise an den chemischen und hygienischen Fragen mitgearbeitet hat, das jodometrische Verfahren, welches im Wolpertschen Luftprüfer sehr schnell und bequem zum Ziele führte. Es wurden 5 ccm $\frac{n}{100}$, bei hohem Gehalt an SO_2 $\frac{n}{10}$ Jodlösung in den Glaszylinder gefüllt, und dann soviel Luft aspiriert, dafs nach kräftigem Schütteln Entfärbung eintrat. Wir verhehlten uns nicht, dafs dies Verfahren nicht die exakten Resultate haben kann wie die gewichtsanalytische Bestimmung. Wenn auch die so erhaltenen Resultate vielleicht um 1% ungenau sein können, so handelte es sich für uns doch mehr darum, schnell die in einer gewissen Zeit vorhandene Konzentration ungefähr zu erfahren, und dazu genügt diese Methode. Eine Bestimmung nahm ungefähr 4 Minuten in Anspruch. Die mit dieser Methode gewonnenen Resultate waren meist etwas niedriger, als wenn wir in einer einfachen von der Firma zu diesem Zweck beigefügten Gasbürette die von Wasser absorbierte SO_2-Menge ablasen.

Während der einzelnen Versuche wurde in Zwischenräumen von $\frac{1}{2}$ Stunde eine Bestimmung $1\frac{1}{2}$ m über dem Boden und öfters auch an der Decke gemacht. Hier wurde durch ein Glasrohr, welches durch die Deckenfüllung nach dem Speicher geführt war, die Luft erst entsprechend lange abgesaugt, bevor zur Bestimmung geschritten wurde. Die Verteilung der Schwefeldämpfe war recht gut durch die Glasfensterchen in der Tür zu verfolgen. Sie breiteten sich zuerst über dem Boden aus, stiegen langsam

höher, erreichten die unteren Fensterscheiben, während die oberen noch frei zu übersehen waren, und wenn die dichte weifse Nebelwand sich bis zur Fensterhöhe emporgeschoben hatte, war das Zimmer in undurchdringlichen Rauch gehüllt, so dafs es schwer war, die in kleinen Käfigen direkt vor den Glasfenstern untergebrachten Tiere zu beobachten.

Nach den Versuchen war der Fufsboden und die im Zimmer aufgestellten Gegenstände mit einer deutlichen Schicht sublimierten Schwefels bedeckt, der, von den dem Apparat entströmenden Gasen mechanisch mitgerissen, sich zum Teil in den Rohrleitungen absetzte, zum Teil der Zimmerluft in feinster Verteilung beigemengt zur Entstehung des weifsen Nebels Veranlassung gab.

Der SO_2-Gehalt der Luft nahm entsprechend der Menge des verbrennenden Schwefels zu. Eine gleichmäfsige Verbrennung gröfserer Schwefelmengen konnten wir auch in dem umfangreicheren der uns zur Verfügung gestellten Apparate kaum erreichen. Sie war bald in der vorderen bald in der hinteren Hälfte des Herdes schwächer und mufste durch öfteres Schüren und Sprengen der sich bildenden oberflächlichen Kruste immer von neuem angefacht werden. Daher ist das sprunghafte Steigen des SO_2-Gehaltes zu erklären, wie wir es nicht selten zu verzeichnen hatten.

Die Verteilung der schwefligen Säure war immerhin eine recht günstige, der Unterschied in den unteren und oberen Luftschichten nur gering. Der kräftige Auftrieb der Schwefeldämpfe, wie er einmal durch das Absaugen der Zimmerluft von oben — wenigstens zu Beginn des Versuches —, dann durch die kräftige Pulsion des Zentrifugalventilators erreicht werden sollte, war niemals zu konstatieren; wie auch niemals ein Druckunterschied durch das Manometer angezeigt wurde. Nach Abstellen des Ventilators sank die schweflige Säure langsam nach unten. Wir bemerkten ihren Geruch nie im Speicherraum, in welchem das zur Luftentnahme dienende Glasrohr offen mündete, hingegen waren die unter dem Versuchszimmer gelegenen Räume öfters so stark mit SO_2 angefüllt, dafs der Aufenthalt für Menschen dort unmöglich war.

Die bakterizide Wirkung der Claytondämpfe in verschiedener Konzentration auf die pathogenen Mikroorganismen, welche an Seidenfäden in offenen Petrischalen ihnen ausgesetzt waren, ist aus folgender Zusammenstellung zu ersehen:

SO_2-Gehalt in %	Typhus	Cholera	Diphtherie	Staphylokokken	Milzbrandsporen
1,5	+	—	+	+	+
2,8	+	—	+	+	+
3,3	verspätet	—	+	+	+
4,3	—	—	—	+	+
5,1	—	—	—	+	+
5,6	—	—	—	∓	+

Betrug der SO_2-Gehalt der Luft 4,3% oder mehr, so wurden Typhus-, Cholera- und Diphtheriebazillen abgetötet. Staphylokokken zeigten eine gröfsere Resistenz, bei 5,6% wurden sie in einem Versuch abgetötet, während sie nach einem anderen sich lebensfähig erwiesen. Im allgemeinen wuchsen sie bei mehr als 5,6% nicht mehr aus.

Ich kann also die Angaben der französischen Forscher, dafs bei 8% SO_2, Typhus-, Cholera- und Diphtheriebazillen abgetötet werden, bestätigen, sofern dem Angriff des Gases ein Hemmnis nicht entgegen trat. Mit Pestbazillen konnte ich aus äufseren Gründen nicht arbeiten, ich glaube aber auf Grund der über diese gemachten Feststelluugen keinen Fehlgriff zu tun, wenn ich sie mit einschliefse. Milzbrandsporen wurden durch die Einwirkung des Claytongases bei 14% SO_2 nicht beeinflufst.

Um mir ein Bild von der Penetrationsfähigkeit des Claytongases zu verschaffen, schlug ich zunächst den von Calmette u. a. befolgten Weg ein. Ich bedeckte teils Testfäden in Reagensgläsern mit verschieden hohen Schichten sterilen Seesandes bis zu 10 cm, teils schlofs ich Reagensröhrchen, an deren Boden die Testfäden lagen, mit 1—3 Schichten Leinen oder kräftigen Tuchstoffes möglichst fest ab und stellte sie so, nach aufsen verschlossen, im Zimmer auf. Das Resultat war dasselbe, wie wenn

die Fäden offen dagelegen hätten, ein unerwartet günstiges. Mir schien es aber nicht absolut sicher, dafs bei dieser Versuchsanordnung die Schwefeldämpfe ausschliefslich durch die deckende Tuchschicbt eingedrungen sind, sie konnten auch einen dem Auge verborgenen Weg zwischen Tuch und Glas genommen haben. Diese Fehlerquelle glaube ich sicber ausgeschlossen zu haben, wenn ich in folgender Weise vorging: Ich liefs mir zwei gleiche, runde, 0,25 cm dicke, 1 cm breite Messingrahmen herstellen, die einen Kreis von 10 cm Durchmesser umschlossen. Zwischen diese zwei Rahmen wurden entsprechend zugeschnittene Tuchstücke gespannt, zwischen die einzelnen Tuchschichten imprägnierte Seidenfäden gelegt. Um zugleich einen Kontrollversuch zur Hand zu haben, wurde in die Mitte zwischen den Tuchschichten eine Blechplatte eingeschaltet. Durch drei starke Klemmschrauben wurden die beiden Rahmen mit den zwischen ihnen liegenden Tuchstücken und der Blechplatte möglichst fest aufeinander geprefst, der Aufsenrand mit Kautschukheftpflaster verklebt und dieses dann mit dicker Paraffinschicht versehen. Ebenso wurde der Innenrand paraffiniert. Auf diese Weise ist es unmöglich gemacht, dafs das desinfizierende Gas von den Rändern her an die Testobjekte gelangen konnte, und es ist sichergestellt, dafs das an dieselben gelangte Gas seinen Weg durch die Tuchschichten genommen hat. Wenn der SO_2-Gehalt im Raum 8% betrug, wurden Cholerakeime, auch wenn sie von drei Tuchschichten bedeckt waren, abgetötet, von Typhus- und Prodigiosus nur die von einer Schicht bedeckten, während Staphylokokken in ihrer Entwicklung um 24 Stunden gehemmt waren. Kontrollfäden von Typhus und Prodigiosus, die so gelegt waren, dafs sie völlig von dem Messingrahmen bedeckt wurden, wuchsen aus, auch wenn sie oberhalb der Tuchschichten lagen.

Stücke von blauem Lackmuspapier, die zugleich mit den Seidenfäden eingelegt waren, zeigten Rotfärbung, aber auch in abnehmender Stärke, indem die von vier Tuchschichten bedeckten weniger grell gerötet waren. Die Rötung des blauen Lackmuspapieres hat allerdings wenig zu bedeuten, da ein SO_2-Gehalt der Luft von ca. 0,01 Volumprozent nach annähernder Bestimmung

nach Wolffhügel[1]) genügt, um diesen Farbumschlag hervorzubringen. Ich glaube hiermit gezeigt zu haben, dafs die Versuchsanordnung eine meinen Absichten entsprechende war, und dafs die Penetrationsfähigkeit des Claytongases zwar eine etwas gröfsere ist als die der bisher bekannten gasförmigen Desinfizientien, dafs sie aber nicht so grofs ist, dafs sie in Ballen zusammengeprefste Handelsartikel so durchdringt, dafs in jeder Entfernung von der Oberfläche die zur keimtötenden Wirkung erforderliche Konzentration vorhanden ist.

Calmette u. a. haben festgestellt, dafs die keimtötende Fähigkeit der Claytondämpfe eine viel gröfsere ist als diejenige des reinen schwefligsauren Gases, das bei der Entwicklung aus dem Anhydrid entsteht, und welches selbst in einer Konzentration von 22% Typhusbazillen u. a. nicht abtötete. Sie sehen die Ursache hierfür in einem geringen Gehalt an schwefelsaurem Anhydrid, welcher der reinen SO_2 fehlt. Nach den Feststellungen, welche in dem hiesigen Institute über die Wichtigkeit des Wasserdampfgehaltes der Luft bei der Formaldehyddesinfektion gemacht sind, hielt ich es für nicht aussichtslos, auch bei der SO_2-Desinfektion diesen Punkt zu berücksichtigen, wenn auch früher der Vorteil, welchen eine der Schwefelung vorangehende Anfeuchtung der Desinfektionsobjekte zu gewähren vermag, als verschwindend klein bezeichnet ist. Ich experimentierte zu diesem Zweck mit den Glaskästen, die zur Anaerobenzüchtung dienen; band die Testobjekte an einen Faden, der mit Siegellack in der Mitte des Deckels befestigt, in den Hohlraum des Kastens herunterhing, so dafs zur Erzielung einer gleichmäfsigen Verteilung der schwefligen Säure das Gefäfs geschüttelt und auch umgestülpt werden konnte. Die Versuche wurden im Juli d. J. gemacht, als die relative Feuchtigkeit der Atmosphäre an sich sehr gering war, aufserdem wurde noch die zur Verdünnung nötige Luft durch Schwefelsäure getrocknet. Hierdurch wurde in dem Versuchskasten die relative Feuchtigkeit um einige Prozente niedriger als in der Atmosphäre.

1) Wolffhügel, Über den Wert der schwefligen Säure als Desinfektionsmittel. Mitteil. a. d. Kais. Ges.-Amt, I.

Durch Durchleiten wasserdampfreicher Luft durch den Versuchskasten erzielten wir in einer zweiten Versuchsreihe eine relative Feuchtigkeit von ungefähr 80%, ohne dafs Kondensationstropfen am Schlusse des Versuches vorhanden waren. Dafs diese Feuchtigkeit erreicht wurde, zeigten kleine Hygrometer an, die bei den ersten Versuchen in den Kästen aufgestellt waren, dann aber fortgelassen werden mufsten, weil sie unter dem Einflusse der schwefligen Säure zu sehr litten. Das Resultat geht aus folgender Tabelle hervor:

Datum des Versuchs	Rel. Feuchtigkeit im Vers.-Kasten	SO_2-Gehalt %	Typh.	Staph.	Prodig.	Aufsenluft	
						Rel Feucht.	Temp. ° C
14. VII.	Luft	3,8	+	+	+	35 %	26°
4. »	durch	11,2	+	+	+	48 »	26°
11. »	H_2SO_4 ge-	12,9	+	+	+	44 »	21,1°
5. »	trocknet	14	+	+	verspätet	55 »	25°
11. »	»	18,8	+	+	verunglückt	44 »	21,1°
8. »	»	28	—	—	—	54 »	23°
5. »	ca. 80%	4,9	+	+	+	55 »	25°
11. »	künstlich	5,6	+	verspät.	verspätet	44 »	21,1°
14. »	ange-	5,6	—	—	—	35 »	26°
4. »	feuchtet	6,6	—	—	—	48 »	26°

Die desinfizierende Kraft des aus dem Anhydrid gewonnenen Gases ist also erheblich geringer als die des Claytongases. Sie wird aber erheblich verstärkt durch hohen Wasserdampfgehalt der Luft. Während in relativ trockener Luft die Wirkung noch bei 18,8% ausblieb, trat sie bei hoher relativer Feuchtigkeit schon bei 5,6% ein, bleibt aber auch dann, also unter den günstigsten Bedingungen, hinter dem Claytongas zurück.

Eine Kombination zwischen Claytongas und Formaldehyd, um die ratten- und insektentötende Kraft des ersteren mit den stärkeren bakteriziden Eigenschaften des letzteren zu vereinigen, ist praktisch ausführbar. Am 14. Juni liefsen wir so lange Claytongas in den Desinfektionsraum hinein, bis Ratten getötet waren, und entwickelten dann Formaldehyd in der nach Flügge vorgeschriebenen Menge. Versehentlich war aber zu wenig Wasser

verdampft. Das im Raum aufgestellte Registrierhygrometer ging nicht über 60%. Die Wirkung blieb aus. Hingegen trat sie bei der Wiederholung des Versuches am 16. Juni, bei der der Fehler vermieden wurde, prompt ein. Eine Beeinflussung der Formaldehydwirkung durch die schweflige Säure hat hiernach nicht stattgefunden.

Zur Feststellung der Wirkung der Claytondämpfe auf tierisches Leben wurden hauptsächlich Ratten verwandt. Bei einzelnen Versuchen wurden kleine durchbrochene Drahtkäfige vor den Beobachtungsfenstern an der Tür aufgehängt, und von Zeit zu Zeit Luftproben direkt aus dem Käfig entnommen. Nach den Angaben von Ogata, dafs Mäuse bereits nach 20 Minuten langer Einatmung einer Luft mit einem Gehalt von 0,8‰ SO_2 sterben, erwartete ich, dafs Ratten bei dem mehr als 20fachen Gehalt sehr schnell, in wenigen Minuten abgetötet sein würden. Dieses trat aber nicht ein, wenigstens bei den ersten Versuchen mit einem kleinen Claytonapparat nicht, wenn der SO_2-Gehalt der Luft nur langsam anstieg. Die erste Reaktion auf die schweflige Säureeinatmung bestand darin, dafs die Tiere mit den Pfoten die Nase kratzten und einigemal stark gähnten. Nachdem sie dann eine Zeitlang ruhig in geduckter Haltung, mit der Nase am Boden in einer Ecke des Käfigs gesessen hatten, fast wie betäubt, stellten sich krampfhafte Inspirationen ein. Dabei wurden die Tiere sehr unruhig und ängstlich, wechselten öfters ihren Platz, richteten sich auch auf und liefsen dadurch erkennen, dafs sie nicht gelähmt waren. Kurz vor dem Tode erfolgten dann 2—3 Konvulsionen, die so heftig waren, dafs der Körper gegen die Käfigdecke geschleudert wurde. Der Tod trat in einer Stunde ein, wenn der SO_2-Gehalt in dieser Zeit bis auf 0,56% stieg.

In der Hoffnung, feststellen zu können, wie die Tiere es versuchen würden, sich den eindringenden Schwefeldämpfen zu entziehen, bauten wir Gegenstände vor dem Fenster des Raumes auf, so dafs die Ratten mit Leichtigkeit in die Höhe, zur Fensterbank klettern konnten; auch wurde eine hohe Klappleiter so aufgestellt, dafs es ein Leichtes für die Tiere war, sie zu erklimmen. Ich konnte aber nie bemerken, dafs sie einen Versuch machten,

in die Höhe zu gelangen. Einmal konnte mit Sicherheit festgestellt werden, dafs die Bewegungsfähigkeit auffallend lange erhalten blieb. Beim Versuch am 4. Juli, bei welchem $1^1/_2$ m über dem Boden um 12 Uhr 50 Minuten 0,29 % SO_2 erreicht war, sahen wir 15 Minuten später, als der SO_2-Gehalt auf 0,8 % gestiegen war, eine Ratte zwar langsam, aber doch in natürlicher aufrechter Haltung quer durch das Zimmer laufen. Die toten Ratten wurden alle auf dem Fufsboden vorgefunden; sie lagen merkwürdigerweise auf den vier Füfsen, nicht auf der Seite oder dem Rücken. Ratten, die nur 5 Minuten bei 0,29 % SO_2 im Raum belassen waren, lebten, an die frische Luft gebracht, noch 2—3 Stunden, wurden sie bei 3 % nur für einige Sekunden in den Raum geschoben, so trat der Tod fast sofort ein.

Bei den durch Claytondämpfe getöteten Tieren bestanden starke Hornhauttrübungen, geringe diffuse Rötung der Trachea, in der geringes schaumiges Sekret war, in den Lungen zahlreiche Blutungen, und ganz vereinzelte Blutpunkte in den Nieren, ein Befund, der auf Erstickungstod hinweist.

In dem Körper der Tiere vorhandene Mikroorganismen waren, wie zu erwarten, dem Gas nicht zugänglich. So wurde Milzbrand und Prodigiosus aus dem Herzblut und der Milz von Mäusen isoliert, die zu einer Zeit zum Versuch benutzt wurden, als die Anwesenheit dieser Keime im Kreislauf anzunehmen war. Der SO_2-Gehalt während dieses Versuches hatte 14 % betragen.

Von dem übrigen an Bord von Schiffen vorkommenden Ungeziefer wurden Kakerlaken (Blattidae) und Wanzen zu den Versuchen benutzt. Sie wurden teils in mit Watte verschlossenen Erlenmeyer-Kölbchen gebracht, teils in Papier eingewickelt in den Polstern eines alten Lehnstuhls verteilt. Der SO_2-Gehalt erreichte während dieses Versuches 2,3 %. Sie wurden sämtlich getötet, auch die Wanzeneier, während Kontrollen, die in einem Kölbchen mit feuchtem Fliefspapier bei 22° gehalten wurden, nach einigen Tagen zur Weiterentwicklung kamen.

Über die Einwirkung auf die Desinfektionsgegenstände habe ich nur einige wenige Beobachtungen angestellt. Verschiedene Stoffproben zeigten keine wahrnehmbaren Veränderungen, an

Tapeten wurden nur die mit unechtem Gold gefärbten Stellen geschwärzt, Metallgegenstände waren zum Teil stark angelaufen, auch wenn die Trockenheit im Raum eine relativ grofse war. Die Messingrahmen, die für die Feststellung der Tiefenwirkung benutzt wurden, waren stets an der freien Fläche so stark gebräunt, dafs sie nur mit Schmirgelpapier zu reinigen waren. Ein Infanterie-Uniformrock zeigte zwar in der Farbe keine Veränderung, doch hatten sich feine Schwefelstäubchen im Tuch so festgesetzt, dafs die dadurch hervorgerufenen bis handtellergrofsen Flecken weder durch Ausbürsten noch Ausklopfen zu entfernen waren. Von Kolonialwaren, die in Bechergläsern in ca. 15 cm hoher Schicht ausgestellt waren, hatten nach den Untersuchungen von Wolpert je 10 g aufgenommen:

ungeröstete Kaffeebohnen	— mg SO_2
geröstete Kaffeebohnen	— » »
Gries	6,0 » »
Reis	6,0 » »
Mehl	7,5 » »

Diese Proben waren von der oberflächlichen Schicht genommen. Vom Mehl wurde auch eine Probe vom Boden untersucht mit demselben Resultat — 7,5 mg. Im Geschmack zeigten Kaffee- und Kakaoaufgüsse keine Veränderung. Mehl, welches drei Tage in flacher Schicht ausgebreitet und gelüftet war, liefs sich gut verbacken. Die Brötchen zeigten im Geschmack nichts Auffallendes, im wässerigen Extrakt war SO_2 nicht nachweisbar.

Wie es nicht anders zu erwarten war, liefsen also die Claytondämpfe gewisse Gegenstände nicht intakt, und es wurde schweflige Säure in immerhin beachtenswerter Menge besonders von den hygroskopischen Substanzen und denen, die eine grofse Oberfläche haben, aufgenommen. Eine weitere Prüfung, welche Waren, besonders von den im Schiffsverkehr verfrachteten bei SO_2-Einwirkung intakt bleiben, und wieweit die Schädigung der anderen geht, besonders wo durch nachfolgende Lüftung der Schaden etwa repariert werden kann, wie beim Mehl, unterliefs ich einmal wegen der dadurch entstehenden Kosten und dann,

weil ich der Ansicht bin, dafs ein endgültiges Urteil nur mit Sachverständigen der Handelskammer abgegeben werden kann.

Unbeabsichtigt ist mir die Einwirkung stark SO_2-haltiger Luft auf Pflanzen vor Augen geführt worden:

Am 27. Mai, einem windstillen Tage, liefs ich abends die durch Verbrennung von 30 kg Schwefel erhaltenen Dämpfe durch Öffnen des Fensters aus dem Zimmer heraus. Am nächsten Morgen mufste ich leider feststellen, dafs die Blätter eines Baumes, der unter dem Fenster stand, in grofser Ausdehnung welk geworden waren; sie hatten sich an den Rändern aufgerollt und zeigten die für SO_2-Intoxikation typische flecken- und strichweise Braunfärbung zwischen den Blattrippen. Von einem anderen Baum, der durch eine niedrige Mauer von dem ersten getrennt war, zeigten nur diejenigen Zweige, die in den Hof herüberragten, dieselbe Veränderung. Allmählich erholte sich der Baum und nach vier Wochen prangte er wieder in frischem Grün.

Die Belästigung der Umwohnenden hätte eine recht grofse sein können, wenn nicht in dem Nachbargebäude Bureauräume gewesen wären, die abends bereits verlassen waren. Deshalb dürfte auf Schiffen, deren Mannschaft und Passagiere während der Desinfektion an Bord bleiben, mit dem Hinauslassen der Schwefeldämpfe sehr vorsichtig verfahren werden müssen. Wenn dieselben bei Unachtsamkeit plötzlich in einen mit Menschen gefüllten Raum eindringen, könnte ein Unglück entstehen. Durch ihren Geruch und die stark reizende Wirkung auf die Respirationsorgane werden allerdings die Schwefeldämpfe, auch wenn sie nur in verschwindender Menge der Luft beigemischt sind, vom Menschen wahrgenommen, im Gegensatz zum Kohlenoxydgas. Unglücksfälle sind deshalb aber auch nicht völlig auszuschliefsen. Wenn an einem schwer zugänglichen Ort des Schiffes irgend ein Mensch zurückgeblieben ist — nehmen wir einen Arbeiter an, der das Signal zum Verlassen des Raumes überhört hat, vielleicht weil er sich zum Schlafen hingelegt — und werden nun in diesen Raum plötzlich Schwefeldämpfe hineingetrieben, so dürfte der, wenn er das Glück hat, von aufsen gehört zu werden, zum mindestens eine schwere Schädigung seiner Gesund-

heit davontragen. Eine dahingehende Erfahrung ist bereits in früheren Jahren gemacht worden. Als Kanes Schiff bei der Polarreise in der Nähe des 80. Breitengrades festgefroren war, hatten die Ratten so überhand genommen, dafs sie bedenklichen Schaden anrichteten. Zu ihrer Vernichtung brannte man nach altem Seemannsgebrauch ein Gemisch von Schwefel und Kohlen an. In kurzer Zeit war der Raum so stark mit Gas gefüllt, dafs zwei Leute, welche unvorsichtigerweise sich hineingewagt hatten, zu Boden fielen und nur mit grofser Mühe an Deck gebracht werden konnten.

Durch Verbrennen des Schwefels im Claytonapparat und Überleiten des sich entwickelnden Gases in einen Raum ist es möglich geworden, in diesem einen SO_2-Gehalt zu erreichen, der hinreicht, die uns bekannten, für die Entstehung von Epidemien in Frage kommenden Mikroorganismen, sofern sie oberflächlich liegen, sicher abzutöten.

Die Penetrationsfähigkeit dieses Claytongases ist gröfser als die des Formaldehyds, sie ist aber nicht so grofs, dafs ein sicheres Eindringen in tiefere Schichten festverpackter Warenbündel zu erwarten ist.

Ratten und Insekten, wie Kakerlaken, Wanzen usw. werden sicher getötet. Bei einer Konzentration von annähernd 1% können Ratten bis 30 Minuten am Leben bleiben, sich bewegen und sich vielleicht auch in Schlupfwinkel zurückziehen, in denen sie aber auch krepieren würden. Bei einer Konzentration von 3% werden sie nach einigen Sekunden getötet. Ein Verkriechen der Tiere ist dabei nicht zu erwarten. Soll das Verfahren angewandt werden, um pestinfizierte Ratten eines Schiffes zu töten, so ist der Erfolg abhängig von der Schnelligkeit, mit der obige Konzentration erreicht wird. Bei den Laboratoriumsversuchen ist dies bei dem geringen Umfang des Apparates allerdings nicht möglich gewesen. Die infektizide Fähigkeit des Claytongases erklärt auch die guten Dienste, welche die Schwefelräucherungen den Amerikanern gegen Gelbfieber geleistet haben, die dies von anderen Staaten als zwecklos angesehene Verfahren doch zum Teil beibehielten. Nicht das noch unbekannte Virus des Gelb-

fiebers wurde vernichtet, sondern die Stechmücken, die die Rolle des Überträgers spielen.

Durch hohen Wasserdampfgehalt wird die bakterizide Wirkung schwefligsauren Gases, aus dem Anhydrid entwickelt, erheblich verstärkt.

Auf Grund des Gehaltes an SO_2 mufs auch durch Claytongas eine Reihe von Gegenständen angegriffen und beschädigt werden, während andere intakt bleiben Durch Lüftung läfst sich ein Teil der schwefligen Säure wieder entfernen, der Schaden reparieren oder auf ein Minimum reduzieren. Sobald chemische Bindung eingetreten, bleibt dauernder Schaden bestehen. Dieses ist der Hauptgrund, der eine gesetzliche Bestimmung unmöglich macht, dafs Schiffe, die auf der Reise einen verseuchten Hafen angelaufen haben, bei ihrer Rückkehr jedesmal mit Claytongas desinfiziert werden.

So sind wir für gewisse Fälle in der Schiffsdesinfektion durch den Claytonapparat wohl etwas gefördert, aber doch noch weit vom Ziel entfernt geblieben, und sind nach wie — vor wie auch in der Wohnungsdesinfektion — darauf angewiesen, zu individualisieren, um den Zweck der Desinfektion sicher zu erreichen, und um unnötige Schädigung der Ladung, also pekuniäre Verluste der Schiffsbesitzer zu vermeiden.

Untersuchungen über Typhus- und Choleraimmunität.

Von

Prof. Dr. **Oskar Bail,**

Assistenten des Institutes.

Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.

(Aus dem Hygienischen Institnt der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.)

Einleitung.

Seit Entdeckung der spezifischen Bakteriolyse durch Pfeiffer, dem Ausbau der Lehre durch Bordet, Ehrlich u. a., hat sich die Anschauung, daſs die Immunität gegen gewisse Krankheitserreger auf Bakteriolyse zurückzuführen sei, rascheste Verbreitung und Geltung zu verschaffen gewuſst. Der Umstand, daſs die jüngste Zeit mehrfache Zusammenfassungen der Immunitätslehre, gröſseren und kleineren Umfanges, gebracht hat, scheint darauf hinzuweisen, daſs man die Lehre der bakteriziden wie die der antitoxischen Immunität, als in den wesentlichen Punkten abgeschlossen, wenn auch natürlich nicht als vollendet ansieht. Selbst Metschnikoff, der im groſsen seinen bekannten zellularen Standpunkt aufrechthält, hat im einzelnen der Lehre von der besonderen, keimtötenden Wirkung der Körpersäfte Zugeständnisse gemacht. Ehrlichs Theorie hat der Auffassung der bakteriziden Immunität unendlichen Nutzen gebracht, indem sie mindestens der Entstehungsgeschichte nach, einen Zusammenhang vieler anderer, bei der Immunisierung auftretender Eigenschaften

mit den bakteriolytischen herstellte und dadurch wenigstens einen gemeinsamen Punkt für jede Art der Immunität festsetzen wollte.

Bei dieser Sachlage mufs es als gewagt erscheinen, die Erscheinungen der Bakteriolyse nicht zu leugnen, — denn das wäre unmöglich —, aber sie als wenig bedeutungsvoll hinzustellen, sie als Vorgänge aufzufassen, die aufserhalb des Tierkörpers schnell und glatt verlaufen, innerhalb desselben aber gar nicht oder nur unter bestimmten Umständen eintreten. Diese näheren Umstände sollen erst erforscht und auf ihren Wert oder Unwert geprüft werden.

Es ist klar, dafs die Erlangung einer derartigen Überzeugung alsbald zu weitgehenden Folgerungen führen mufs, denen man sich auf keine Weise entziehen kann. Denn wenn die Bakteriolyse kein allgemeiner, sondern ein von bestimmten Versuchsbedingungen abhängiger Vorgang ist, so kann sie auch nicht Ursache der Immunität sein. Das ist ein Schlufs, den bereits Metschnikoff im wesentlichen gezogen hat. Aber er ist in dieser Form noch nicht erschöpfend. Eine genauere Analyse mufs vielmehr ergeben: entweder ist diejenige Immunität, bei deren Erlangung bakteriolytische Eigenschaften auftreten, keine wirkliche Immunität, d. h. keine Widerstandsfähigkeit gegen die Krankheit, sondern nur eine solche gegen den in bestimmter Form angewendeten Krankheitserreger, oder sie ist wirkliche Immunität, nur dafs dann ihr eigentliches Wesen nicht in der Bakteriolyse, die blofse Begleiterscheinung ist, aufgeht.

Gegenüber der Wucht dieser Folgerung wiegt die nächste nicht mehr so schwer, dafs nämlich alle Hypothesen über die Entstehungsweise der »bakteriolytischen Stoffe«, ihren Bau, ihren Zusammenhang mit normalen Resorptionsverhältnissen usw. nichts betreffen, was das Wesen der Immunität ausmacht.

In dem sehr grofsen Umfange, den das einmal begonnene Problem bei dieser Fragestellung notwendig annehmen mufste, liegt eine Entschuldigung, deren die folgende Darstellung in zweifacher Richtung bedarf. Einmal, was die Vollständigkeit betrifft: es konnte nicht jede Einzelfrage, die auftauchte, behandelt, nicht jede, deren theoretische Erörterung sich aufdrängte,

durch eigene, weit ausgedehnte Versuche bewiesen werden. Dazu reicht die Arbeitskraft einer trotz langer Dauer doch nur kurzen Zeit nicht aus. Dann aber auch, was die Darstellungsweise anlangt: bei der Bedeutung des Gegenstandes schien eine sonst nicht übliche Breite der Ausführung mit Angabe möglichst vieler Versuche wünschenswert und erlaubt. Dabei wurde oft nicht eine systematische, sondern eine sozusagen entwicklungsgeschichtliche Reihenfolge eingehalten, die zeigen soll, wie die vorgefafste Meinung der Alleinrichtigkeit der bakteriolytischen Lehre von Versuch zu Versuch schwächer werden mufste. Fast 8 Jahre hindurch immer wieder wurden Versuche aufgenommen in der Erwartung, dafs doch die Bakterizidie, das Absterben der Keime im Blute, das Ausbleiben der Infektion erklären müsse. Danach war es nicht leicht, die Überzeugung zu gewinnen, und es ist nicht leicht, sie auszusprechen, dafs die keimtötende Eigenschaft der Körperflüssigkeiten im Grunde wertlos für Erklärungsversuche der Immunität sei.

A. Bakteriolyse in den Organen des Tierkörpers.

Es waren Untersuchungen über Milzbrandimmunität, welche die ersten Zweifel an der Bedeutung der Serumbakterizidie entstehen liefsen. Zum grofsen Teile in gemeinsamer Arbeit mit Pettersson sollte das alte Problem untersucht werden, wieso das Kaninchen mit seinem für Milzbrand ungewöhnlich stark wirksamen Blute empfänglich, das Huhn mit der entgegengesetzten Eigenschaft unempfänglich sein könne. Das Fallenlassen der Buchnerschen einheitlichen »Alexine« schien eine neue Untersuchungsart zuzulassen, und die Sera aller überhaupt zu erlangenden Tiere wurden auf ihren Gehalt an Immunkörper und Komplement geprüft. Das Ergebnis war ganz geeignet, die ohnedies unklare Sachlage noch mehr zu verwirren. Immunkörper liefsen sich bei den meisten Tieren ohne weiteres feststellen, aber ein gesetzmäfsiges Verhältnis zwischen ihrer Menge und der Empfänglichkeit des betreffenden Tieres fehlte ganz. So enthielt z. B. das Serum des Schafes oft sehr wenig, das des Kaninchens viel mehr, das des Rindes aufserordentlich viele

Immunkörper, und doch stehen diese Geschöpfe einander an Milzbrandempfänglichkeit nicht fern.

Versuche, die Verhältnisse des Reagensglasversuches denen des Tierkörpers dadurch zu nähern, dafs den Serumproben frische Orgauzellen zugesetzt wurden, lieferten das interessante Ergebnis, dafs dabei die keimtötenden Eigenschaften des Serums schwanden oder doch vermindert wurden. Ähnliches hatten auch v. Dungern[1]), Wilde[2]) und Hoke[3]) für Hämolyse gefunden, und es ist zunächst wenig wichtig, ob dieses Unwirksamwerden durch ein Versagen des Immunkörpers oder des Komplements bedingt ist. Hauptsache bleibt, dafs eine höchst auffällige Erscheinung sofort aufhört, sobald die Verhältnisse, wie sie im Innern von Organen herrschen, wenn auch in roher Form nachgeahmt werden. Im Gegensatze zu v. Dungern und Wilde, die in dem ganzen Vorgange nur eine Wirkung von toten Körperbestandteilen sehen wollten, liefs sich eine ganze Anzahl von Gründen dafür angeben, dafs ähnliches auch im Tierkörper vorkommen müsse. Damit schien das Problem der Kaninchenempfänglichkeit nicht so sehr gelöst, als nicht bestehend erwiesen: denn wenn innerhalb der Körperorgane keine Keimabtötung durch das Blut erfolgen kann, so ist in der jederzeit zu sehenden Vermehrung der Milzbrandbazillen etwas Rätselhaftes nicht mehr zu erblicken. Ob nun dieser, bei Beginn der Untersuchuugen gar nicht vorauszusehende Schlufs befriedigte oder nicht, jedenfalls mufste er ernste Bedenken gegen eine Verwertung der im Glase zu beobachtenden Keimtötung auf eine Erklärung der Verhältnisse des Tierkörpers erregen. Als nun in rascher Folge festgestellt werden konnte, dafs weder im Innern des natürlich immunen Huhnes, noch in dem künstlich immunisierter Kaninchen irgend etwas, der Reagensglasbakterizidie Ähnliches vorkomme, dafs ein, andere Tiere schützendes Immunserum die Eigenschaft eines bakteriziden gar nicht besitze, da mufste darauf verzichtet werden, für Milzbrand eine Blut- und Säftebakterizidie als Ursache einer Immu-

1) Münchner med. Wochenschr., 1900, Nr. 20 u. 28.
2) Dieses Archiv, 38, S. 1.
3) Zentralbl. f. Bakteriol., 34, S. 693.

nität, ob künstlicher oder natürlicher, anzusehen. Auch Sobernheim ist am Schlusse seiner langjährigen und tiefgehenden Untersuchungen über künstliche Milzbrandimmunität im wesentlichen zu dem gleichen Schlusse gekommen, obwohl seine ersten Versuche nicht nur als Beispiel bakterizider Immunität angeführt wurden, sondern auch das sog. »Nichtpassen der Komplemente« erweisen sollten.

Ein Absterben der eingebrachten Keime mufs ja natürlich im Körper eines immunen Tieres doch erfolgen, und es liefs sich auch wahrscheinlich machen, wie ein solches eintreten könne. Dabei sind aber nicht Körperflüssigkeiten, sondern Zellen, namentlich die des Knochenmarkes, das Wichtige, und es handelt sich meist nicht um ein rasches Zugrundegehen zahlreicher Keime wie im Glasversuche mit Serum, sondern um ein verhältnismäfsig langsames Verschwinden.

Das was am Milzbrand gefunden war, konnte zunächst nur für Milzbrand gelten; aber gerade hier würden besondere bakterizide Eigenschaften als Ursache der Immunität so zweckmäfsig erscheinen, dafs man sie eigentlich auch vielfach als selbstverständlich ohne besondere Untersuchungen angenommen hat. Ihr Fehlen mufste daher gegen die Bakterizidie überhaupt mifstrauisch machen, und Gründe für dieses Mifstrauen lagen selbst für Typhus und Cholera bereits vor. Hoke[1]) hatte nämlich durch ausgedehnte Versuchsreihen feststellen können, dafs die natürliche keimtötende Kraft des Kaninchenserums gegen verschiedene Bakterien bei Annäherung des Reagensglasversuches an die Verhältnisse in den Organen sehr gering wird oder auch ganz schwindet, und weiter, dafs nach Zusatz von Organzellen zu einem ganz frischen Serum nicht nur Immunkörper wie bei Milzbrand, sondern auch Komplemente versagen.

Wenn aber, z. B. auch für Typhus nach Hokes Versuchen, die natürliche Serumbakterizidie im Kaninchenkörper Schwierigkeiten ihrer Entfaltung begegnete, so konnte sie ebensowenig wie bei Milzbrand in eine Beziehung zur natürlichen Widerstandskraft

1) Zeitschrift für Heilkunde, 1904. Habilitationsschrift.

des Kaninchens gebracht werden. Sollte daher nach der fast allgemeinen Annahme die künstliche Typhusimmunität ihre Ursache nur in einer in bestimmter Richtung gesteigerten keimtötenden Kraft der Körperflüssigkeiten haben, so mufste sich diese entweder ganz verschieden von der natürlichen Serumbakterizidie verhalten, oder sie konnte auch nicht als Erklärungsgrund ausreichen. Das mufste untersucht werden, und es war von vornherein klar, dafs Versuche im Reagensglase keine Entscheidung bringen konnten, diese vielmehr ausschliefslich im Tierkörper selbst gesucht werden mufste.

Es ist bereits seit langer Zeit eine Erscheinung bekannt, welche mit einer bedeutenden Verschiebung der Empfänglichkeit für Typhus oder Cholera oder Staphylokokkeninfektion einhergeht, und die doch nicht auf Veränderungen der Serumbakterizidie, sondern auf das Auftreten von Zellen zurückgeführt wird, die sog. »erhöhte Resistenz«. Die Versuche Hueppes, Kleins, Sobernheims, Issaeffs, Pfeiffers u. a. haben gezeigt, dafs man durch Einspritzung von Bouillon, von fremden Bazillen etc. die Empfänglichkeit eines Meerschweinchens von der Bauchhöhle aus sehr bedeutend herabsetzen kann, und sehr allgemein wird dies auf das Auftreten von Leukozyten und die sofort einsetzende Phagozytose zurückgeführt.[1]) Allerdings nimmt Pfeiffer[2])

1) Der Vergleich von Resistenz und Immunität hat bereits zu vielen und langen Auseinandersetzungen Veranlassung gegeben, die hier nicht besprochen oder erneuert werden sollen. Immerhin kommt man wirklich in Verlegenheit, wenn man die beiden Begriffe anders als durch die Spezifität auseinanderhalten soll, worauf Hueppe mehrfach und erst jüngstens wieder (Harbenvorlesung) hingewiesen hat. Dafs die erhöhte Resistenz nur gegen mäfsige Dosen schützen soll, trifft nicht zu, wie man leicht einsieht, wenn man älteren Meerschweinchen 5 ccm Bouillon und nach 24 Stnnden Typhus oder Cholera injiziert, die bis zu 10- und selbst 15fach tödlicher Menge vertragen werden. Auch die Dauer der Resistenz kann eine ganz erhebliche sein, wie gelegentlich heobacbtet wurde, z. B.:

Meerschweinchen 40.	15. VII.	1 Öse Chloroformtyphus ip. 16. VII. 03 1 Öse lebende Typhusbazillen mit Typhusserum.	
	17. IX.	1 Öse Cholera	lebt. Kontrolltier nach 1 Öse Cholera + weniger als 15 St.
	18. IX.	2 Ösen Cholera	

Wenngleich sonst die Resistenz schneller vorübergeht, so ist doch eine lange Dauer auch bei der passiven Immunität nicht vorhanden. Der einzige

(Note 2) s. nächste Seite.)

neuestens an, dafs es sich hierbei wesentlich um ein durch Entzündung bedingtes, verstärktes Zuströmen amboceptorenhaltiger Flüssigkeit in die Bauchhöhle handle. Aber die direkte Beobachtung lehrt ganz unzweideutig, dafs hier die Phagozytose in so grofsem Mafsstabe eintritt, dafs ihr gegenüber die, im übrigen jederzeit auch zu beobachtende Schädigung von Bakterien aufserhalb der Zellen (Radziewsky) sehr in den Hintergrund tritt. Von erheblicher Wichtigkeit sind hier Beobachtungen, wie die folgende, bei der ein normales wie ein resistent gemachtes Tier Serummengen erhielten, welche für die später eingespritzte Bakterienzahl nicht ausreichten.

Tabelle I.

Meerschweinchen 86.

1. X. 0,001 ccm Serum Pfeiffer unter die Haut.

2. X. 1 Öse Cholera ip.

Sofort nach der Einspritzung: Anzahl roter, sehr wenige weifse Blutkörperchen. Massenhaft schwärmende Vibrionen.

Nach 10 Min.: Wenige, meist in Klumpen vereinte weifse Blutkörperchen. Vibrionen in Menge, alle unbeweglich, ca. die Hälfte normal aussehend, die andern gequollen, auch bereits viele Körnchen, die z. T. in kleinen Haufen beisammenliegen.

Nach 20 Min.: Nur rote Blutkörperchen in geringer Zahl, keine weifsen. Vibrionen zwar sehr zahlreich, aber doch gegen früher vermindert. Dabei Verhältnis der normalen zu den veränderten Vibrionen wie vorher.

Nach 30 Min.: Nicht wesentlich anders.

Nach 40 Min.: Wenige kleine, runde, weifse Blutkörperchen. Zahl

Meerschweinchen 87.

30. IX. 5 ccm dünnen Aleuronates ip.

1. X. Desgl. und 0,001 ccm Serum Pfeiffer unter die Haut.

2. X. 1 Öse Cholera ip.

Sofort nach der Einspritzung: Sehr trübes, aber wenig dickes Exsudat. Massenhaft Leukozyten, neben kleinen viele grofse polynukleärs und Makrophagen, einzelne schon jetzt vibrionenhaltig. Vibrionen in Menge, unbeweglich, sonst normal.

Nach 10 Min.: Dickes Exsudat mit vielen Flöckchen. Grofse Menge von Leukozyten, ein grofser Teil in Klumpen, aber fast alle pseudopodienführend. Es sind durcheinander grofse und kleine polynukleäre, fast alle bereits reichlich Vibrionen, die meist schon zu Körnchen verwandelt sind, enthalten freie Vibrionen in Menge, ungefärbt, alle normal, aber unbeweglich; die Färbung wies spärliche freie Granula nach.

---

wirkliche Unterschied zwischen dieser und der Resistenz kann nur in der Spezifität der ersteren gesucht werden, vorausgesetzt natürlich, dafs die Versuchsbedingungen entsprechend eingehalten werden.

2) Kongrefs in Brüssel. Seite 25 des Pfeifferschen Referates und Schlufsfolgerung, XVII.

der Vibrionen im ganzen stark vermindert, dabei aber fast alle vorhandenen normal, an einigen Stellen mit beginnender Bewegung. Körnchen und gequollene Vibrionen fast verschwunden.

Nach 55 Min.: Fast keine weifsen Blutkörpercben. Zahl der beweglichen Vibrionen in starker Zunahme begriffen, daneben wieder eine gröfsere Zahl von Körnchen.

Nach $1^1/_2$ St.: Ein einziger Lymphozyt gefunden. Mengen schwärmender Vibrionen, daneben noch Granula.

Nach 2 St.: Bild der fortschreitenden, gewöhnlichen Vermehrung. Wenig Körnchen.

Nacb $2^3/_4$ St.: Der Tropfen ganz von wimmelnden Vibrionen erfüllt. Fast keine Zellen.

Das Tier stirbt nach weniger als 15 St. mit dem gewöhnlichen Befunde.

Nach 20 Min.: Dickes trübes Exsudat mit vielen, oft grofsen Flocken. Leukozyten, unter denen grofse polyuukleäre überwiegen, in Menge, oft in Klumpen. Alle voll von Körnchen aufserhalb der Zellen, vielfach normale Vibrionen, keine Körnchen.

Nach 30 Min.: Sehr dickes, trübes, flockenhaltiges Exsudat. Leukozyten wie vorher mit stärkster Körnchenphagozytose. Zahl der freien Vibionen sehr vermindert, die vorhandenen unbeweglich, aber normal aussehend, ungefärbt nur zwei sichere Körnchen gefunden.

Nach 50 und 60 Min.: Dickes trübes Exsudat mit kleinen Flocken. Die meisten Leukozyten frei, nicht mehr verklumpt. Stärkste Granulaphagozytose. Vibrionen weiter vermindert, nirgends mit Sicherheit freie Granula.

Nach $1^1/_2$ St.: Dicker Eiter. Allgemeine Granulaphagozytose, doch sind die Zellen nicht mehr so dicht wie früher gefüllt. Freie Vibrionen weiter vermindert. Sehr spärliche freie Körnchen.

Nach $1^3/_4$ St.: Dicker Eiter mit viel roten Blutkörperchen vermengt. Phagozytose wie vorher. Freie Vibrionen nur noch vereinzelt, im übrigen aber normal aussehend.

Nacb 2 St.: Wie vorher, Phagozytose stark abnehmend.

Das Tier bleibt ohne besondere Krankheit am Leben.

Die unmittelbare Beobachtung lehrt somit, dafs ein geändertes Verhalten eines Tieres gegen die Infektion durchaus nicht auf eine Steigerung von Abtötungsvorgängen aufserhalb von Zellen, also auf Vermehrung von Serumbakterizidie zurückgeführt werden mufs. Statt dieser tritt vielmehr Zelltätigkeit als Ursache der Resistenz in Erscheinung. Die zu beobachtende Phagozytose unterscheidet sich dabei nicht von der auch im tödlich infizierten Tiere leicht zu findenden, und man kann kaum fehlgehen in der

Annahme, daſs die Ansammlung einer groſsen Zahl von Zellen, die einzeln nichts anderes als ihre gewohnte Fähigkeit entfalten, die Resistenz veranlaſst. Leider ist es nicht möglich, ohne sehr eingreifende Mittel zellfreie Flüssigkeiten in der Bauchhöhle eines Meerschweinchens so leicht anzusammeln als Leukozyten. Es würde sich dann ein Vergleich der Wirkung von Zellen und Serum vielleicht durchführen lassen.

a) Versuche mit Typhusbazillen.

Für die Untersuchung der Frage, ob sich bakterizide Wirkungen, die denen des Reagensglasversuches genähert sind, auch im Tierkörper nachweisen lassen, muſste von vornherein die übertragene Immunität am günstigsten erscheinen, und diese ist auch in der folgenden Darstellung ausschlieſslich berücksichtigt. Denn hier lautet die Lehre der herrschenden Richtung ganz bestimmt: Ursache der übertragenen Immunität ist die Abtötung der in den Körper eingeführten Bakterien, ermöglicht durch die mit dem Immunserum eingespritzten Immunkörper, die sich mit dem Komplemente des normalen Tieres zum Bakteriolysin verbinden. Da im Reagensglase die Abtötung sehr groſser Bakterienmengen (siehe z. B. die Versuche von Neisser und Wechsberg[1]) in kurzer Zeit erfolgt, so muſste natürlich erwartet werden, daſs das alles im Tierkörper ebensogut oder noch schneller und besser vor sich gehen werde. Das muſste besonders dann möglich erscheinen, wenn eine Versuchsanordnung gewählt wurde, die den Reichtum des Tierkörpers an Komplementen gut ausnutzte, wie die Einspritzung von Serum und Bazillen in die Blutbahn. Damit ist von vornherein der Einwand eines etwaigen Komplementmangels beseitigt, der gegen die Verhältnisse bei der später noch zu erwähnenden Einführung unter die Haut erhoben werden kann.

Nach den Lehren der Bakteriolyse, die ja gerade für Typhus und Cholera am reinsten gelten, muſs somit ein Tier, dem man Immunserum und Bazillen in die Blutbahn einführt, nach kurzer

1) Neiſser und Wechsberg, Münchner med. Wochenschr., 1901.

Zeit schon keimfrei sein oder doch deutlich weniger Bazillen enthalten als ein zweites, dem nur Bazillen eingeführt wurden.

Ursprünglich waren nur Versuche mit Typhus in Aussicht genommen; es erwies sich aber als notwendig, auch die entsprechenden Verhältnisse bei Cholera zu untersuchen, wobei sich die wichtige Tatsache ergab, dafs zwischen diesen beiden Mikroorganismen, deren Immunitätsverhältnisse anscheinend in so vielen Punkten übereinstimmen, durchgreifende Unterschiede bestehen, die bei fast jeder Versuchsanordnung deutlich zum Ausdruck kommen. Sie sind sehr bedeutungsvoll für die Auffassung der Pathogenität von Bakterien überhaupt.

Sehr zahlreiche Versuche mit Einspritzung von Serum und Bazillen in die Blutbahn wurden an Kaninchen angestellt. Dabei mufs aber vorbemerkt werden, dafs es fast unmöglich ist, in derartige Infektionsversuche eine Regelmäfsigkeit hineinzubringen. Wenn man nicht ganz grofse Bazillenmengen verwendet, so läfst sich eine kleinste tödliche Bazillenzahl überhaupt nicht angeben. Es sterben Tiere mit kleinen Gaben rasch, während solche mit viel gröfseren entweder ganz am Leben bleiben oder erst nach längerer Zeit ganz herabgekommen zugrunde gehen. Auch wenn man sich beschränken und nur jene Bazillenmenge feststellen will, die innerhalb einer bestimmten Zeit, z. B. binnen 24 Stunden, zum Tode führt, ergeben sich Unregelmäfsigkeiten. So sieht z. B. die folgende Reihe ziemlich brauchbar aus (Tiere von ca. 1500 g).

Kaninchen α. 1/2 Öse Typhusagarkultur iv. Lebt.

Kaninchen β. 1 Öse Typhusagarkultur iv. Stirbt nach weniger als 24 Stunden. Milz vergröfsert. In 4 Ösen Herzblut. 46 Bazillen.

Kaninchen γ. 2 Ösen Typhusagarkultur iv. Stirbt nach weniger als 24 Stunden. Milz vergröfsert. In 4 Ösen Herzblut. 10900 Bazillen.

Kaninchen δ. 3 Ösen Typhusagarkultur iv. Stirbt nach 30—36 Stunden. Milz vergröfsert. Starke Darmentzündung. In 4 Ösen Herzblut. 128 Bazillen.

Aber schon der nächste Versuch, bei dem die aus Herzblut von Kaninchen γ gezüchteten Kulturen angewendet wurden, fiel anders aus (Tiere von 14—1500 g).

Kaninchen α. 1/2 Öse Typhusagarkultur iv. Stirbt nach 27 Stunden. Milz vergröfsert. In 4 Ösen Herzblut. 970 Bazillen.

Kaninchen β. 1 Öse Typhusagarkultur iv. Stirbt nach 16 Tagen im Zustande stärkster Abmagerung.

Kaninchen γ. 1½ Öse Typhusagarkultur iv. Stirbt nach 2 Tagen ohne besonderen Befund. In 4 Ösen Herzblut. 0 Bazillen.

Kaninchen δ. 2 Ösen Typhusagarkultur iv. Stirbt am 5. Tage mit undeutlicher Milzvergröſserung. In 4 Ösen Herzblut. 0 Bazillen.

Kaninchen ε. 3 Ösen Typhusagarkultur iv. Stirbt nach weniger als 20 Stunden. Milz groſs. Darm rot. In 4 Ösen Herzblut. Über 10000 Bazillen.

Auch der Befund lebender Bazillen im Blute schwankt bei den infolge verhältnismäſsig kleiner Mengen gestorbenen Tieren; in einzelnen Fällen hat zweifellos Vermehrung stattgefunden, in anderen ist davon nichts zu bemerken. Längere Zeit am Leben gebliebene Tiere enthalten in der Regel keine Bazillen mehr. Alle diese Befunde stimmen mit den bereits bekannten Ermittelungen verschiedener Untersucher überein, bezüglich deren auf Neufelds[1]) Zusammenstellung verwiesen sein mag.

Unter solchen Umständen ist natürlich auch eine Bestimmung der Schutzwirkung eines bakteriziden Immunserums sehr schwierig und ohne daſs eigene Versuche in gröſserer Zahl angestellt wurden, weisen doch einzelne Beobachtungen daraufhin, daſs möglicherweise eine solche überhaupt nicht deutlich festzustellen ist.

Kaninchen 57. 1½ Öse Typhusagarkultur iv., kurz vorher 0,5 ccm Immunserum »Edgar« ebenfalls iv. Das Tier war am andern Tage deutlich krank, erholte sich aber und lebt.

Kaninchen 58. Gleichzeitig mit Kaninchen 57 in derselben Weise infiziert, gleiche Serummengen. Stirbt am andern Tage. Blut, Leber, Milz, Niere ergaben auf schrägem Agar üppiges Wachstum.

Kaninchen 25. 1 ccm Immunserum »Edgar« iv., 1 Stunde später ¼ Agarkultur Typhus ebenfalls iv. Stirbt nach weniger als 12 Stunden. Üppige Kulturen aus Blut, Milz und Leber.

Kaninchen 26. Wie 25 ohne Serum infiziert. Stirbt nach 12—16 Stunden. Üppige Kulturen aus Blut, Milz und Leber.

Das Ergebnis der weiteren Untersuchungen läſst es wohl als möglich erscheinen, daſs das Immunserum bei dieser Anordnung keinen Schutz verleiht, vorausgesetzt, daſs die Zahl der eingespritzten Bazillen groſs genug oder die körperliche Beschaffenheit des Kaninchens eine derartige ist, daſs ein dauerndes Haften der

1) Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 1902. Heft 6 u. 7.

Bakterien überhaupt möglich ist. Doch soll dieser Schlufs nicht gezogen werden ohne systematische Versuche, die nicht im Plane der gegenwärtigen Arbeit lagen.

Da es aber ohne weiteres gelingt, im Reagensglase durch Zusatz von Kaninchenserum (Komplement) zu sehr kleinen Mengen von Immunserum stärkste Keimabtötung zu erreichen, so mufste sich auch im Kaninchenkörper selbst ähnliches finden lassen, wenn überhaupt eine Übertragung der Ergebnisse des Glasversuches auf den Tierkörper möglich sein soll. Dies traf in keinem einzigen Falle zu.

Der zu allen Versuchen benutzte Typhusstamm »Dobschan« ist derselbe, der bereits früher zu Agglutinationsversuchen gedient hat und den auch Hoke benutzt hatte. Er tötete Meerschweinchen von ca. 200 g bei intraperitonaler Injektion mit 1/5 Öse. Später stieg die Virulenz durch zahlreiche Impfungen sehr beträchtlich, so dafs mit 1/15 Öse die kleinste tödliche Gabe noch nicht erreicht war. Fortlaufende genaue Bestimmungen der Virulenz erschienen für den Zweck dieser Untersuchungen ebensowenig notwendig, als die damit verbundenen, auf kleine Bruchteile eines Kubikzentimeters sich erstreckende Auswertung des bakteriziden Immunserums. Nur darauf war Rücksicht zu nehmen, dafs die angewendete Menge desselben in Beziehung zur steigenden Virulenz der Bazillen gehalten wurde (Pfeiffer u. Kolle[1]). Das mit Ausnahme der vor längerer Zeit mit Kaninchenimmunserum angestellten ersten Versuche ausschliefslich benutzte Serum war der Liebenswürdigkeit von Herrn Dozenten Kraus zu verdanken; es stammt vom Pferde und trug die Bezeichnung »Edgar«. Näheres über seine Herstellung ist bei Kraus und Joachim[2]) zu finden. Die Wirksamkeit desselben war eine sehr hohe; 0,001 schützten Meerschweinchen von ca. 200 g vor der ca. zehnfach tödlichen Menge Typhusagarkultur vollkommen. Meist wurde mit viel gröfseren Mengen gearbeitet, deren Wirkung aus den später zu erwähnenden Versuchen am Meerschweinchen ohne weiteres zu ersehen ist.

1) Zeitschrift f. Hygiene, 1896, Bd. 21.
2) Kraus und Joachim, Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., 1904, 36, S. 665.

Dafs das Serum »Edgar« auch im Reagenzglase den üblichen Anforderungen an hochwertige Bakterizidie mit vermehrtem Immunkörpergehalt entsprach, beweist folgende Tabelle:

Tabelle II.

Serum zweier normaler Kaninchen (a und b) in steigenden Mengen zu 0,001 ccm Serum »Edgar« zugesetzt. Auffüllung mit peptonhaltiger physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm in allen Proben. Reichliche Einsaat von Typhusagarkulturen.

	Sofort	Nach 3 Stunden	
		Serum a	Serum b
1. 0,001 ccm Serum Edgar + 0,05 ccm Kaninchenserum	15 – 20 000	8480	912
2. » » » » + 0,1 » »		2120	1264
3. » » » » + 0,2 » »		1224	576
4. » » » » + 0,3 » »		392	95
5. » » » » ohne »		∞	∞
6. 0,05 ccm Kaninchenserum		∞	∞
7. 0,1 » »		∞	ca. 10000
8. 0,2 » »		6240	5520
9. 0,3 » »		8720	352

Bringt man einem Kaninchen sowohl Serum als Typhusbazillen in die Blutbahn und untersucht nach verschiedener Zeit die Organe auf ihren Keimgehalt, so ergibt sich mit voller Regelmäfsigkeit, dafs die Bazillen trotz des Immunserums in den Organen lebend bleiben und zwar so, dafs kein wesentlicher Unterschied Tieren gegenüber besteht, welche Bazillen allein erhalten haben.

Die Keimzahlbestimmung geschah in folgender Weise: Die Milz der Kaninchen wurde gewissermafsen als Einheit genommen und von Leber und Niere entsprechend grofse Stücke verwendet. In den Anfangsversuchen wurde die Milz gewogen und ebenso die anderen Organe. Da dies aber nicht nur zeitraubend ist, sondern auch das keimfreie Arbeiten erschwert, so wurden später nur dem Augenmafse nach der Menge der Milz entsprechende Stücke aus Leber und Niere herausgeschnitten. Für die Keimzahlbestimmung im Knochenmark wurde das grofse Mark eines Oberschenkels, das stets rot ist, verwendet. Die Genauigkeit ist

auch so genügend grofs, da ja selbstverständlich eine vollkommene Übereinstimmung auch mit der Wage kaum zu erreichen ist. Die Organe werden dann in einer Reibschale mit 5 ccm Kochsalzlösung verrieben und der so erhaltene Brei durch ein feines Drahtnetz durchgeprefst. Reibschale und Drahtnetz wurden zweimal mit je 5 ccm Kochsalzlösung nachgespült und von den vereinten Flüssigkeiten (15 ccm) wurde 1 ccm zur Agarplatte verarbeitet. Ebenso wurden stets 1 oder $^1/_2$ ccm des beim Verbluten frisch ausströmenden Blutes auf den Keimgehalt geprüft. Jede Abweichung von dieser Versuchsanordnung wird in den folgenden Tabellen eigens angegeben.

Tabelle III.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
40	0,4 ccm Serum »Edgar« iv.	$^1/_4$ Std. später 2 Ösen Typh. iv.	Verblutet nach 18 Std.	0,5 ccm Blut 224 Leber 8240 Milz 2072 Niere 7 Knochenmark 2120	Milz geschwollen
41	—	Wie 40		0,5 ccm Blut 92 Leber 10 320 Milz 4648 Niere 30 Knochenmark 864	Milz geschwollen. Das Tier schien bereits krank zu sein
47	0,5 ccm Serum »Edgar« iv.	5 Std später 1 Öse Typh. iv.	Verblutet nach 16 Std.	0,5 ccm Blut 2160 Leber über 20 000 Milz 1920 Niere 19 Knochenmark 4240	Milz geschwollen
48	—	Wie 47		0,5 ccm Blut 3688 Leber über 20 000 Milz 5768 Niere 49 Knochenmark 8280	Milz geschwollen
49	1 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach 5 Std. $1^1/_2$ Ösen Typhus iv.	Verblutet nach 16 Std.	0,5 ccm Blut 728 Leber 2640 Milz 5032 Niere 2288 Knochenmark 4720	Milz vergröfsert. Bauchorgane trotz vollständiger Verblutung sehr dunkel

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
50	—	Wie Nr. 49	Verblutet nach 16 Std.	0,5 ccm Blut 432 Leber 3400 Milz 2088 Niere 380 Knochenmark 1360	Milz geschwollen
55	0,5 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach 5 Std. ½ Öse Typh. iv.	Verblutet nach 16 Std.	1 ccm Blut 2 Leber 472 Milz 1376 Niere 14 Knochenmark 1344	Milz kaum vergröfsert
56	—	Wie Nr. 55		1 ccm Blut 171 Leber 96 Milz 488 Niere 2 Knochenmark 2656	Milz kaum vergröfsert
65	0,75 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach ½ Std. ½ Öse Typh. iv.	Verblutet nach 22 Std.	0,5 ccm Blut 212 Leber 20 Milz 14 Niere 0 Knochenmark 272	Keine Organveränderungen
64	—	Wie Nr. 65		0,5 ccm Blut 728 Leber 43 Milz 32 Niere 1 Knochenmark 570	Keine Organveränderungen
2	1 ccm Immunserum von Kaninchen + 1 Agarkultur wenig virulentem Typhus iv.		Verblutet nach 24 Std.	1 ccm Blut 83 Leber 7260 Milz 6300 Niere 62	Milz geschwoll. Die Zahl d. Keime wurde hier und bei Nr. 1 so bestimmt, dafs je 1 grofse Öse der durch Draht geprefsten Organe mit Agar vermischt wurden
1	Wie 2 ohne Serum			1 ccm Blut 712 Leber 12 400 Milz 17 600 Niere 230	Milz geschwollen

Über den reinen Zahlenwert dieser und auch der folgenden Angaben wird man sich nicht leicht einer Täuschung hingeben

können: die Methode, durch die sie gewonnen wurden, ist eine verhältnismäfsig rohe, und die Fehlerquellen mögen grofs und zahlreich sein. Besser sind diese Werte schon als Vergleichszahlen zu gebrauchen, die u. a. über die Verteilung der Bazillen in den einzelnen Organen Aufschlufs geben. Dabei fällt, wie auch in allen späteren Versuchen, der sehr geringe Keimgehalt der Niere auf, von dem es nur sehr wenige Ausnahmen gibt. Leber und Milz enthalten meist abwechselnd die meisten Bazillen, auch das Knochenmark ist daran ziemlich reich. Über das Verhalten des Blutes wird später noch einiges anzuführen sein.

Was aber diese Zahlen ganz unzweideutig beweisen, ist, dafs infolge der Einführung selbst sehr grofser Mengen wirksamen Immunserums eine nachweisbar stärkere Keimvernichtung im Kaninchenkörper nicht eintritt. Allerdings herrscht zwischen den Bakterienmengen des normalen und des Serumtieres nur selten eine vollständige Übereinstimmung; aber gerade der Umstand, dafs die höheren Werte meist nur einzelnen Organen, nicht dem Gesamttier zukommen, beweist, dafs die Nichtübereinstimmung durch die Fehlerquellen der Methode bedingt ist. Selbst dort, wo die Serumtiere ziemlich allgemein einen geringeren Bakteriengehalt als die Kontrollen aufweisen (Nr. 47—48, Nr. 1—2), ist die Zahl der Bakterien in ihren Organen noch so hoch, dafs man von einer besonderen Bakterizidie kaum sprechen kann, sondern eher den individuellen Verhältnissen der Tiere einen Einflufs zuschreiben wird.

Auch dann, wenn die Einspritzung der Bazillen, in die Brusthöhle übertragen immunisierter Kaninchen erfolgt oder wenn intravenöse und intrapleurale Bazilleneinführung verbunden werden, läfst sich wenig von besonderer Keimestötung nachweisen. Mit Rücksicht auf den Pfeifferschen Versuch, der sich ja in geschlossenen serösen Höhlen abspielt, wurden zahlreiche Versuche dieser Art angestellt.

(Siehe Tabelle IV auf S. 288—291.)

Tabelle IV.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
13	1/4 Agarkultur + 2 ccm Serum »Edgar« iv., gleich darauf 1/4	Agarkultur ipl.	Nach 3 Stunden durch Nackenschlag getötet. Herz sofort eröffnet	10 Ösen Herzblut 248 Leber . 22 300 Milz . . . . 9 800 Niere . . . . 430 0,1 ccm Exsudat ∞	Ca. 3 ccm blutiges Exsudat in der Brust, mit vielen roten, wenigen polynukleären weissen Blutkörperchen, vielen gut färbbaren Bazillen. Diese sind anfangs alle einzeln, zeigen aber im hängenden Tropfen nach 2 Std. Haufenbildung, die aber bis nach 6 Std. nicht wesentlich stärker wird. Vermehrung findet ungehindert statt.
14	Wie 13, aber	ohne Serum		10 Ösen Herzblut 6 160 Leber . . . 41 000 Milz . . . . 7 100 Niere . . . . 19 0,1 ccm Exsudat ∞	Ca. 4 ccm blutiges Exsudat in der Brust mit genau dem gleichen Befunde wie Nr. 13. Die Organe von 13 und 14 wurden zwar in gewöhnlicher Weise gewonnen, aber nur in je 10 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt.
15	1/2 Öse Typhus + 2 ccm Serum »Edgar« iv., 1/4 Std. danach 1 Öse in 2 ccm Bouillon ipl.		Nach 3 Stunden durch Nackenschlag getötet. Herz sofort eröffnet	10 Ösen Herzblut 1 128 Leber . über 10 000 Milz . . . . 530 Niere . . . . 78 Knochenmark 4 700 0,1 ccm Exsudat ∞	Das Tier hat bei der Tötung starken Durchfall. In der Brust ca. 2 ccm trübes, leicht blutiges Exsudat mit sehr vielen Bazillen und einer ansehnlichen Zahl polynukleärer Leukozyten, von denen ein Teil als Phagozyten wirkt. Im hängenden Tropfen mehrfach gequollene Bazillen, doch findet ungehinderte Vermehrung statt.
16	Wie 15 ohne Serum			10 Ösen Herzbl. 11 300 Leber . . . 10 700 Milz . . ca. 30 000 Niere . . . . 200 Knochenmark 6 200 0,1 ccm Exsudat ∞	Zeigte zur Zeit der Tötung keine Krankheit. Ca. 1,5 ccm trübes, wenig blutiges Exsudat mit sehr vielen Bazillen, aber nur sehr spärlichen Leukozyten, ohne Phagozytose.
17	1 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach 8 Std. 1/2 Öse Typhus ipl.	16 Stunden nach der Bazilleneinspritzung verblutet	0,5 ccm Blut . 12 Leber . . . 496 Milz . . . . 22 Niere . . . . 7 Knochenmark 61 Exsudat . . . 4	Kein Krankheitszeichen. In der Brust war sehr wenig Eiter mit massenhaften polynukleären Leukozyten ohne Bazillen. Das zur Keimbestimmung dienende »Exsudat« wurde durch Ausspülen der Brusthöhle mit 1 ccm NaCl-Lösung gewonnen.

18	—	Wie 17	16 Stunden nach der Bazilleneinspritzung verblutet	0,5 ccm Blut . 6 Leber . . . 12 Milz . . . . 13 Niere . . . . 1 Knochenmark 22 Exsudat . . 2 392	Kein Krankheitszeichen. In der Brust 2 ccm dicker Eiter, der ganz zur Keimbestimmung verwendet wird. Mikroskopisch enthielt derselbe massenhaft polynukleäre Leukozyten, von denen viele kleine, tief gefärbte Körnchen, die nicht wie Granula aussehen, enthalten. Bazillen wurden nicht gefunden.
19	1 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach 1 Std. $^1/_4$ Kultur Typhus ipl.	Nach 17 Stunden verblutet	0,5 ccm Blut . 17 Leber . über 10 000 Milz . . . . 34 Niere . . . 62 Knochenmark 29 0,5 ccm Exs. üb. 20 000	Ohne Krankheit. 0,5 ccm trübes Exsudat mit massenhaften polynukleären Leukozyten, wenige Makrophagen. Keine normalen, ganz vereinzelt gequollene Bazillen.
20	—	Wie 19		0,5 ccm Blut . 0 1 ccm Exsudat 0	Das ohne Krankheitszeichen getötete Tier zeigte eine alte ausgedehnte Unterhauteiterung, weshalb die Organe nicht verwendet wurden. In der Pleura ca. 4 ccm reinen Eiters.
23	1 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach 1 Std. $^1/_4$ Öse Typhus iv. und ebensoviel ipl.	Nach 24 Stunden verblutet	0,5 ccm Blut . 0 Leber . über 10 000 Milz . . . . 368 Niere . . . . 27 Knochenmark 76	Ohne Krankheit. Milz vergrößert. In der Brust fand sich kein Exsudat vor.
24	—	Wie 23		0,5 ccm Blut . 0 Leber . über 10 000 Milz . . . . 928 Niere . . . . 3 Knochenmark 31 Exsudat . . . 17 300	Ohne Krankheit. Wenige Tropfen Eiter in der Brust, die mit NaCl-Lösung ausgespült und zur Platte verarbeitet wird. Darin polynukleäre Leukozyten, sehr spärliche Typhusbazillen.
25	1 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach 1 Std. $^1/_4$ Agarkultur Typhus iv., $^1/_8$ Agarkultur ipl.	Stirbt nach ca. 4 Std.	Ausstriche von Exsudat, Milz, Leber und Blut geben auf schiefem Agar reichliche Kulturen	In der rechten Brusthöhle ca. 3 ccm leicht rötliches, wenig trübes Exsudat und spärliche polynukleäre Leukozyten, zahlreiche normale Bazillen. Milz geschwollen.

Fortsetzung zu Tabelle IV.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
26	—	Wie 25	Stirbt nach 12 bis 16 St.	Wie bei 25	In der rechten Brusthöhle ca. $1^1/_2$ ccm dickes eitriges Exsudat mit zahllosen polynukleären Leukozyten, von denen viele als Phagozyten für Typhusgranula wirken. Zahlreiche freie, normale Bazillen.
27	1 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach $^1/_2$ Std. $^1/_2$ Agarkultur Typhus ipl.	Nach 16 Stunden verblutet	0,5 ccm Blut . 19 Leber . . . ca. 200 Milz . . . . 84 Knochenmark 60 0,5 ccm Exsudat ∞	In der Brusthöhle ca. 4 ccm dickes eitriges Exsudat mit massenhaften polynukleären Zellen, die fast alle Granula führen. Wenige und schlecht gefärbte freie Typhusbazillen. Milz grofs. Das Tier erschien bei der Verblutung nicht krank.
28	0,5 ccm Serum »Edgar«, das unmittelbar vor der ipl.-Einspritzung mit $^1/_2$ Agarkultur Typhus versetzt wird			0,5 ccm Blut . 0 Leber . . . 6 200 Milz . . . . 1 440 Knochenmark 97 0,5 ccm Exsudat 42 000	Ca. 4 ccm dickes eitriges Exsudat mit massenhaften, oft in Klumpen geballten polynukleären Leukozyten, von denen viele Körnchen führen. Keine freien Bazillen oder Körnchen. Milz grofs. Das Tier war ganz munter.
29	—	$^1/_2$ Agarkultur Typhus ipl.		0,5 ccm Blut . 21 Leber . über 20 000 Milz . . . . 260 Knochenmark 384 0,5 ccm Exsudat ∞	Ca. 7 ccm trübes Exsudat, das viel weniger zellreich ist als die von 27 und 28. Die Zellen fast durchaus polynukleär, viele mit Körnchen. Viele freie Körnchen und von da Übergängen bis zu den zahlreich vorhandenen normalen Bazillen. Milz grofs. Das Tier schien krank zu sein.
32	1 ccm Serum »Edgar« iv.	Nach 1 Std. $^1/_4$ Agarkultur Typhus ipl.	Nach 18 Stunden verblutet	0,5 ccm Blut . 0 Leber . . . 9 Milz . . . . 9 Niere . . . . 0 Knochenmark 0 0,25 ccm Exsud. 22 400	Ca. 2,5 ccm dickes eitriges Exsudat mit vielen polynukleären Leukozyten, weniger Makrophagen. Viele Zellen führen Körnchen. Typhusbazillen nicht gefunden. Milz geschwollen. Das Tier war munter.

33	—	Wie 32	Nach 18 Stunden verblutet	0,5 ccm Blut . Leber . . . . Milz . . . . Niere . . . . Knochenmark 0,25 ccm Exsud.	0 17 2 4 2 92 000	Ca. 4 ccm dickes eitriges Exsudat, das ganz mit dem von 32 übereinstimmt. Nur finden sich hier schon mikroskopisch freie, meist schlecht gefärbte Bazillen in geringer Zahl. Milz geschwollen. Tier ganz munter. Zur Aufschwemmung der sonst wie gewöhnlich hergerichteten Organe dienten bei 32 und 33 nur 8 (statt wie sonst 15) ccm Na Cl-Lösung.
38	0,8 ccm Serum »Edgar« iv.	Gleich danach $^1/_4$ Agarkultur ipl.	Nach 24 Stunden verblutet	0,5 ccm Blut . Leber . . . . Milz . . . . Niere . . . . Knochenmark Ca. 0,5 ccm Exs.	17 3 768 42 12 21 13 260	Wenig dickes eitriges Exsudat und viele polynukleäre, weniger Makrophagen. Weder Bazillen noch Körnchen. Dagegen findet sich beides in den eitrigen Auflagerungen der Lunge, wo die Zahl der Makrophagen viel gröfser und Phagozytose sehr stark entwickelt ist. Die gefressenen Bazillen sind teils nur gequollen, teils in Körnchen umgewandelt. Milz leicht vergröfsert.
39	—	Wie 38		0,5 ccm Blut . Leber . . . . Milz . . . . Niere . . . . Knochenmark 0,05 ccm Exsudat	2 19 0 0 0 122	Sehr wenig dickes, trübes, leicht blutiges Exsudat. Befund hier wie in den Auflagerungen der Lunge ganz mit den von 38 übereinstimmend, nur fehlen freie, erkennbare Bazillen ganz. Milz kaum vergröfsert.
67	0,8 ccm Serum »Edgar« iv.	$3^1/_2$ Stunden später 1 Öse Typhusagarkultur ipl	Nach 24 Stunden verblutet	0,5 ccm Blut . Leber . . . . Milz . . . . Niere . . . . Knochenmark 0,1 rechtes Exs. 0,3 linkes Exsud.	17 2 34 0 25 3 520 408	Keine sichtbare Krankheit. In der rechten Brust ca. 5 ccm Exsudat mit vielen Zellen, die zum grofsen Teil polynukleär, zum kleinen Teil Makrophagen sind, mit spärlicher Granulaphagozytose. Typhusbazillen und freie Körnchen nicht gefunden. Ähnlicher Befund, aber mit viel Granulaphagozytose in den Eiterauflagerungen der Lunge. Milz stark vergröfsert.
66	—	Wie 67	Nach 24 Stunden verblutet	0,5 ccm Blut . Leber . . . . Milz . . . . Niere . . . . Knochenmark 0,1 rechtes Exsud. 0,3 linkes Exs.	0 272 6 0 70 ∞ 21 200	Keine Krankheit. In der rechten Brust ca. 5 ccm trübes Exsudat. Befund hier und in den Auflagerungen der Lunge ganz entsprechend den von 67, nur dafs freie Bazillen reichlich vorhanden sind.

In der Tabelle ist eine gröfsere Zahl von Versuchen angeführt, um eine Vergleichung zu ermöglichen. Wie bei den Versuchen mit intravenöser Bazilleneinführung, handelt es sich auch hier nur zum Teile um Bakterienmengen, die mit Wahrscheinlichkeit als tödlich bezeichnet werden können; es kann also von einer Überschwemmung des Körpers, von einem Aufbrauch der Komplemente oder der durch das Serum vermehrten Immunkörper nicht die Rede sein, was auch die später zu erwähnenden Reagensglasversuche bestätigen. Dennoch ist von einer Keimvernichtung höheren Grades im übertragen immunisierten Tiere nichts zu merken. Das ist das Ergebnis, das allein nicht schwankt, während sonst die Zahlen der Versuchsreihen mehrfach wechseln.

Gar nicht selten sind die Keimgehalte in den Organen der Kontrolltiere erheblich niedriger als in den Serumtieren, in anderen Fällen herrscht ungefähre Gleichheit, nur in wenigen scheint eine stärkere Bazillenvernichtung im Serumtier stattgefunden zu haben, die aber ebensogut auf besondere körperliche Verhältnisse, wie auf die eingespritzten Immunkörper bezogen werden kann. Besondere Beachtung verdienen natürlich die Befunde in der Brusthöhle selbst. Wenngleich hier mehrfach die lange bekannte Erscheinung zu beobachten war, dafs das mikroskopische Fehlen der Bazillen, und das blofse Vorhandensein von Körnchen innerhalb und aufserhalb der Zellen keine wirkliche Keimfreiheit bedeutet, so ist doch nicht zu verkennen, dafs in einzelnen Fällen die Brusthöhle der Serumtiere bazillenärmer war als die der normalen. Bei einem Tiere wie Nr. 28, das Serum und Bazillen gleichzeitig erhalten hatte, entspricht das einem einfachen Pfeifferschen Versuche, und es ist eigentlich am meisten auffallend, dafs doch noch so viele Bazillen lebensfähig bleiben. Bei Tieren, wie Nr. 66—67, 17—18, ist die Wirkung des Serums in der Brusthöhle eine unzweideutige, bei anderen Tieren tritt der Unterschied gegen die Kontrollen weniger scharf hervor oder schwindet ganz. Das könnte sich auf die zu kurze Zeit, die zwischen Serum- und Bazilleneinspritzung liegt, zurückführen lassen. Tatsächlich ist ja bekannt, dafs die besten

Schutzwirkungen bei intraperitonealer Meerschweinchenimpfung dann eintreten, wenn Bazillen und Serum schon aufserhalb des Tierkörpers gemischt werden. Man kann sich sehr leicht davon überzeugen, dafs selbst weitaus überschüssige Serummengen, die unter der Haut eingeführt werden, Meerschweinchen vor einer kurze Zeit danach erfolgenden Typhuseinspritzung in die Bauchhöhle nicht schützen.

Meerschweinchen 3. 0,3 ccm Serum »Edgar« unter die Achselhaut, 1 Stunde später 1 Öse Typhusagarkultur ip. Stirbt nach 13 Stunden. Im Exsudat sehr zahlreiche Bazillen. Ausstriche auf schiefem Agar liefern vom Exsudate und der Milz üppige, von Leber, Niere und Herz dürftige Kulturen.

Meerschweinchen 4. 1 Öse Typhusagarkultur ip. ohne Serum. Stirbt nach ca. 10 Stunden. Im Exsudate sehr zahlreiche Bazillen. Ausstriche aus Exsudat, Milz und Herzblut geben reichliche, aus Leber und Niere dürftige Kulturen.

Derartige Befunde sind durch einen Hinweis auf die langsame Aufsaugung des Serums von der Haut aus leicht zu erklären und tatsächlich wirken auch die Einführungen kleinerer Serummengen vollständig schützend gegen intraperitoneale Infektion, wenn sie mehrere Stunden vor derselben erfolgen. Was aber bei subkutaner Serumeinspritzung leicht erklärlich ist, gilt nicht für eine solche in die Blutbahn. Man sollte doch meinen, dafs die im Blute kreisenden Immunkörper ebenso leicht in die Brusthöhle treten können, wie etwa farblose Blutkörperchen oder die Flüssigkeit des Exsudates, und dennoch läfst nur ein Teil der angestellten Versuche stärkere Keimtötung erkennen, obwohl bis zu 24 Stunden Zeit dazu gegeben war.

Nicht minder interessant ist, dafs der Übertritt der Bazillen aus der Pleurahöhle in das Blut und in die Organe nur in einem einzigen Falle (Kaninchen 27) unzweideutig gehemmt wurde, während sonst ein deutlicher Unterschied gegen die ohne Serum belassenen Tiere nicht vorhanden war. Die gewonnenen Keimzahlen machen es wahrscheinlich, dafs der erste Einbruch in die Leber erfolgt.

Um darüber ins klare zu kommen, wie sich die Keimmengen innerhalb einer Zeit ändern, die im Meerschweinchenversuche

ausreicht, um eine grofse Bazillenzahl zum Verschwinden zu bringen, wurde folgender Versuch angestellt:

Kaninchen 30 erhielt 1 ccm Serum »Edgar« iv., nach 1/4 Stunde 2 Ösen Typhusagarkultur ebenfalls iv. Das Tier wird sofort nach der Einspritzung getötet, und es verflossen bis zur Entnahme der Organe nur 8 Minuten. Milz und ihrer Gröfse entsprechende Stücke von Leber und Niere, sowie das ganze Mark eines Oberschenkels wurden unter Zusatz von 2 ccm defibrinierten Blutes des Tieres zerrieben und von dem Brei 0,2 ccm mittels weiter Pipetten entnommen und untersucht.

1 ccm Blut (während des Verblutens aufgefangen)	7 000
0,2 ccm defibriniertes Blut	560
0,2 ccm Leberbrei	45 300
0,2 ccm Milz	23 000
0,2 ccm Niere	608
0,2 ccm Knochenmark	544.

Kaninchen 31 genau wie 30 behandelt, aber 3 Stunden nach der Bazilleneinspritzung verblutet.

1 ccm Blut (während des Verblutens aufgefangen)	49
0,2 ccm defibriniertes Blut	0
0,2 ccm Leber	37 000
0,2 ccm Milz	27 000
0,2 ccm Niere	320
0,2 ccm Knochenmark	5 300.

Binnen 3 Stunden hat also, aufser im Blute selbst, eine wesentliche Bazillenverminderung unter dem Einflusse des Serums nicht stattgefunden. Es war nun von Interesse zu sehen, ob aufserhalb des Körpers unter solchen Umständen sofort Vermehrung platzgreifen könne, oder ob sich dann etwa Keimvernichtung nachweisen lasse.

Tabelle V.

Zu diesem Zwecke wurden die mit defibriniertem Blute hergestellten Organverreibungen der Kaninchen 30 und 31 (nach Wegnahme der für die Keimzahlbestimmung nötigen Menge von 0,2 ccm) 3 Stunden lang im Brutschrank gehalten und mittels reichlicher Ösenaussaat das Schicksal der Typhusbazillen verfolgt.

	Kaninchen 30		Kaninchen 31	
	sofort	nach 3 h	sofort	nach 3 h
1. 2 ccm defibr. Blut	4	0	0	0
2. 2 » » » + Leber	ca. 12 000	9 280	ca. 10 000	ca. 10 000
3. 2 » » » + Milz	7 300	3 048	6 300	5 760
4. 2 » » » + Niere	160	71	2	0
5. 2 » » » + Knochenmark	544	0	2 120	12

Die Fehlerquellen bei einer solchen Versuchsanordnung sind so zahlreich, dafs nicht erst ausdrücklich darauf hingewiesen werden mufs. Bei aller gebotenen Vorsicht aber dürfte doch der Schlufs erlaubt sein, dafs die starke Entwicklungshemmung der Blutorganmischungen des Kaninchens 30 binnen 3 Stunden aufserhalb des Tierkörpers, dem Keimgehalt, wie er in den Organen des Kaninchens 31 gefunden wurde, nicht entspricht. Um nun über das Verhältnis der Bakterizidie aufserhalb und innerhalb des Tierkörpers weitere Aufschlüsse zu erhalten, wurden bei einer ganzen Anzahl der in den früheren Tabellen erwähnten Kaninchen Reagensglasversuche an die Keimzahlbestimmung der Organe angeschlossen. Diese sollten auch gleichzeitig Aufschlufs geben, ob in den infizierten Tieren überhaupt Komplement und Immunkörper vorhanden seien, und ob sich nicht in den Serumtieren ein vermehrter Immunkörpergehalt nachweisen lasse.

Hoke hatte nachgewiesen, dafs Organzellen bei bakteriziden Typhusversuchen sowohl Immunkörper als Komplement unwirksam machen, im Gegensatz zu Milzbrand, wo nur der Immunkörper leidet. Dafs in typhuskranken Tieren bis zum letzten Augenblicke Komplement vorhanden sein kann, hatte ebenfalls bereits Hoke gefunden. Dieser Nachweis mufste im vorliegenden Falle leicht zu führen sein: wirkte das Serum der infizierten Tiere nach ihrer Tötung noch bakterizid, so konnte Komplement nicht fehlen. Für die Immunkörper kam aber folgende Überlegung in Betracht: wenn Organzellen diese unwirksam machen, so ist es wahrscheinlich, dafs die gleiche Menge von Zellen ein an Immunkörpern reicheres Serum weniger stark, als ein daran ärmeres beeinflussen wird.

Im folgenden sind alle überhaupt in dieser Richtung angestellten Versuche mitgeteilt. Die Versuchsanordnung schlofs sich im ganzen eng an die Hokes an. Wie erwähnt, war die Keimzahlbestimmung in der Weise durchgeführt worden, dafs die fein verteilten Organe (Stücke, die an Gröfse der im ganzen verarbeiteten Milz entsprachen) in 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung verteilt und davon 1 ccm zur Platte verarbeitet wurde. Der Rest der Aufschwemmung wurde in zwei gleiche Teile geteilt

und zentrifugiert. Dadurch wird nicht nur ein gleichmäfsiges Arbeiten erzielt, sondern auch der Serumrest, der an den Organen haftet, zum grofsen Teil entfernt. Nach Abgiefsen der obenstehenden Flüssigkeit wurde der Zellsatz mit dem höchstens 3 Stunden alten Serum vermischt und nach Einsaat der Versuch sofort begonnen.

Tabelle VI. Kaninchen 17 und 18 (siehe Tabelle IV).

	Kaninchen 17 (immun)		Kaninchen 18 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	4200	0	3120	0
2. 1 » » + Leber	9448	2024	5040	üb. 10000
3. 1 » » + Milz	3520	162	3032	4080
4. 1 » » + Niere	3768	49	3600	üb. 10000
5. 1 » » + Knochenmark .	3120	0	2400	2

Tabelle VII. Kaninchen 23 und 24 (siehe Tabelle IV).

	Serum von Kaninchen 23 (immun)		Serum von Kaninchen 24 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	296	0	224	0
2. 1 » » + Leber v. Kaninch. 23	ca. 35000	∞	ca. 27000	∞
3. 1 » » + » » » 24	19 200	∞	» 20000	∞
4. 1 » » + Milz » » 23	466	256	536	1224
5. 1 » » + » » » 24	320	320	392	2120
6. 1 » » + Niere » » 23	384	2848	288	} über 10000
7. 1 » » + » » » 24	376	4700	348	
8. 1 » » + Knochenm. v. K. 23	432	5	440	9
9. 1 » » + » » » 24	512	4	576	11

Tabelle VIII. Kaninchen 32 und 33 (siehe Tabelle IV).

	Serum von Kaninchen 32 (immun)		Serum von Kaninchen 33 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	3320	0	S. bei Kaninchen 32 [1])	0
2. 1 » » + Leber v. Kaninch. 32	3040	} über 10000		} über 20000
3. 1 » » + » » » 33	3200			
4. 1 » » + Milz » » 32	2824	1928		
5. 1 » » + » » » 33	3360	2600		
6. 1 » » + Niere » » 32	3000	} über 10000		
7. 1 » » + » » » 33	2700			
8. 1 » » + Knochenm. v. K. 32	2960	2		0
9. 1 » » + » » » 33	3260	0		0

1) Die Einsaatgröfse war in diesem Versuche nur einmal, für Kaninchen 32 bestimmt worden.

Tabelle IX.

Kaninchen 38 und 39 (siehe Tabelle IV).

	Serum von Kaninchen 38 (immun)		Serum von Kaninchen 39 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	1744	0	1264	0
2. 1 » » + Leber v. Kaninch. 38	2024	über	1400	über
3. 1 » » + » » » 39	1656	10000	1520	20000
4. 1 » » + Milz » » 38	1224	1640	1144	200
5. 1 » » + » » » 39	1300	1288	1200	320
6. 1 » » + Niere » » 38	1528	ca.	992	über
7. 1 » » + » » » 39	1440	10000	1360	20000
8. 1 » » + Knochenm. v. K. 38	1024	0	1176	312
9. 1 » » + » » » 39	1152	3	1416	176

Tabelle X.

Kaninchen 40 und 41 (siehe Tabelle III).

	Serum von Kaninchen 40 (immun)		Serum von Kaninchen 41 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	1392	0	1128	0
2. 1 » » + Leber v. Kaninch. 40	2240	über	2080	über
3. 1 » » + » » » 41	2720	10000	2800	10000
4. 1 » » + Milz » » 40	2080	1736	1976	5700
5. 1 » » + » » » 41	1536	360	1840	3680
6. 1 » » + Niere » » 40	1276	2328	2500	3700
7. 1 » » + » » » 41	1808	2960	3280	4200
8. 1 » » + Knochenm. v. K. 40	1800	5	1768	21
9. 1 » » + » » » 41	2200	30	2720	Platte verunreinigt,

aber sicher nur wenige Typhuskolonien

Tabelle XI.

Kaninchen 47 und 48 (siehe Tabelle III).

	Serum von Kaninchen 47 (immun)		Serum von Kaninchen 48 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	832	0	?	0
2. 1 » » + Leber v. Kaninch. 47	ca.	7240	12 300	über
3. 1 » » + » » » 48	15000	9300	ca. 15000	20000
4. 1 » » + Milz » » 47	1120	62	920	4200
5. 1 » » + » » » 48	1392	14	808	4640
6. 1 » » + Niere » » 47	712	4128	932	7128
7. 1 » » + » » » 48	584	5360	720	9380
8. 1 » » + Knochenm. v. K. 47	3100	0	4300	vieleTyph.-Kolonien (verunr.)
9. 1 » » + » » » 48	2248	0	2400	4300

Tabelle XII.

Kaninchen 49 und 50 (siehe Tabelle III).

	Serum von Kaninchen 49 (immun)		Serum von Kaninchen 50 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	3 120	970	2 960	
2. 1 » » + Leber v. Kaninch. 49	8 240	?	12 000	
3. 1 » » + » » » 50	6 000	ca.10000	8 800	
4. 1 » » + Milz » » 49	7 300	552	9 600	
5. 1 » » + » » » 50	7 000	992	ca.10000	∞
6. 1 » » + Niere » » 49	10 200	480	11 500	
7. 1 » » + » » » 50	9 120	1360	7 280	
8. 1 » » + Knochenm. v. K. 49	12 200	1224	9 300	
9. 1 » » + » » » 50	9 400	9900	12 360	

Tabelle XIII.

Kaninchen 55 und 56 (siehe Tabelle III).

	Serum von Kaninchen 55 (immun)		Serum von Kaninchen 56 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	4720	0	5040	0
2. 1 » » + Leber v. Kaninch. 55	4872	7280	4332	üb.10000
3. 1 » » + » » » 56	3264	272	6648	4864
4. 1 » » + Milz » » 55	4568	0	5920	3536
5. 1 » » + » » » 56	5080	0	4968	5928
6. 1 » » + Niere » » 55		320	5528	5600
7. 1 » » + » » » 56		6496	5840	7480
8. 1 » » + Knochenm. v. K. 55	4000	0	5136	332
9. 1 » » + » » » 56	3840	0	4660	288

Tabelle XIV.

Kaninchen 65 und 64 (siehe Tabelle III).

	Blut von Kaninchen 65 (immun)		Blut von Kaninchen 64 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm defibr. Blut	1120	0	1920	0
2. 1 » » » + Leber v. Kan. 65	864	5	1760	640
3. 1 » » » + » » » 64	1224	0	992	812
4. 1 » » » + Milz » » 65	1240	0	1280	704
5. 1 » » » + » » » 64	1032	0	1520	392
6. 1 » » » + Niere » » 65	1456	17	1200	9528
7. 1 » » » + » » » 64	912	14	1472	880
8. 1 » » » + Knoch. v. K. 65	1424	0	1352	0
9. 1 » » » + » 64	2860	0	2720	496

Tabelle XV.

Kaninchen 67 und 66 (siehe Tabelle IV).

	Blut von Kaninchen 67 (immun)		Blut von Kaninchen 66 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm defibr. Blut	1248	0	1344	0
2. 1 » » » + Leber v. Kan. 67	936	128	1120	1900
3. 1 » » » + » » » 66	1440	95	1200	3120
4. 1 » » » + Milz » » 67	1120	41	928	1400
5. 1 » » » + » » » 66	1008	160	880	1368
6. 1 » » » + Niere » » 67	1328	82	1040	5200
7. 1 » » » + » » » 66	928	560	1152	4720
8. 1 » » » + Knoch. v. K. 67	1264	4	1088	191
9. 1 » » » + » » » 66	976	0	800	408

Bei der Betrachtung dieser Zahlenreihen darf man der Sachlage nach natürlich nicht jene Regelmäfsigkeit erwarten, die sonst, z. B. in der Aussaatgröfse bei bakteriziden Versuchen angestrebt wird. Vergleicht man aber die Zahlen, welche die Sera der immunisierten und die der Kontrolltiere lieferten, so wird man in keinem einzigen Versuche eine keimtötende Wirkung der ersteren ganz vermissen. Die eigene bakterizide Kraft des Serums oder Blutes ist mit Ausnahme eines einzigen Tieres überall erhalten und meist sehr stark. Es kann also kein Komplementmangel vorhanden gewesen sein. In voller Bestätigung der wichtigen Versuche Hokes wird durch Zusatz von Organzellen die Serumwirkung überall geschädigt, aber überall im Kontrolltiere weit mehr als im übertragen immunen. Selbst dann, wenn in einigen Organen der Unterschied verwischt ist, tritt er doch in anderen hervor. Nur das Knochenmark läfst in den meisten, aber nicht in allen Fällen, auch beim Kontrolltiere die keimtötende Serumwirkung ungeschädigt. Da dieser Unterschied im Verhalten des Serums normaler oder passiv immuner Tiere nur auf die vorangegangene Einspritzung von Immunkörpern bezogen werden kann, so folgt daraus, dafs das Blut der Serumtiere alle Eigenschaften hatte, um eine gesteigerte Abtötung von Typhusbazillen herbeizuführen. Wenn davon nichts zu sehen ist, wenn sich der Bakteriengehalt in den Organen passiv immuner von dem normaler Tiere nicht wesentlich unterscheidet, so ergibt

sich nur der eine Schlufs, dafs die Bazillenabtötung im Tierkörper nicht in der Weise erfolgen kann wie im Glasversuche. Sonst hätte in der bis zu 24 Stunden ausgedehnten Zeit zwischen Einspritzung der Bazillen und Verblutung des Tieres ein ausgesprochener Unterschied im Keimgehalt der Organe vorhanden sein müssen. Es wird später bei Choleraversuchen darauf hinzuweisen sein, dafs solche Unterschiede sehr deutlich in Erscheinung treten, sobald nur durch besondere Verhältnisse auch im Tierkörper Bakterizidie möglich wird.

Im Grunde genommen wird durch diese Feststellungen nur die Zahl der ungelösten Probleme vermehrt, die sofort auftauchen, sobald man mit bakteriolytischen Reagensglasversuchen die Verhältnisse beim Eintritt von Bakterien in den Tierkörper zu erklären versucht. Es handelt sich aber nur um Scheinprobleme; denn die erste Frage, die zu beantworten ist, mufs dahin gehen, ob denn die Bakterizidie im Tierkörper überhaupt vorhanden sei. Läfst sich das, wie im gegebenen Falle der übertragenen Typhusimmunität oder in einem frühen der Milzbrandempfänglichkeit des Kaninchens, verneinen, so liegt auch kein Problem mehr vor.

Der Widerspruch zwischen Reagensglas- und Tierversuch tritt ganz besonders auffällig in einigen Zahlen hervor, die bei der Untersuchung der Exsudate von Tieren gewonnen wurden, die Typhusbazillen in die Brusthöhle erhalten hatten. Es zeigte sich da, dafs namentlich das von Zellen befreite Exsudat bakterizide Wirkungen im Glase entfalten konnte, obzwar es im Tiere Wachstum zugelassen hatte. Von fünf Versuchen hatten drei sicher dieses Ergebnis.

Tabelle XVI.

Exsudate der Tiere 27, 28 nnd 29. Einsaat von Typhusbazillen.

	Kaninchen 27		Kaninchen 28		Kaninchen 29	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Exsudat als solches	10 800	4200	9300	12 600	über 30 000	∞
2. 1 » » sorgfältig zentrifugiert	2 488	90	3120	83	23 400	208

Tabelle XVII.
Exsudate der Kaninchen 32 und 33.

	Kaninchen 32 (immun)		Kaninchen 33 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Exsudat als solches	6920	10 240	9100	11 400
2. 1 » » sorgfältig zentrifugiert	4800	23	5360	212

Tabelle XVIII.
Exsudate der Kaninchen 66 und 67.

	Kaninchen 67 (immun)		Kaninchen 66 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Exsudat als solches	1276	52	∞	∞
2. 1 » » sorgfältig zentrifugiert	980	0	∞	höchstens 30 000

Es erschien nicht der Mühe wert, Tiere zu opfern, um zu ermitteln, warum dieses Ergebnis nicht in allen Fällen zu erzielen war. Die Anführung der obigen Versuche genügt, um zu zeigen, dafs ein solches widersinniges Verhalten möglich ist.

Weniger zahlreich als die Versuche am Kaninchen sind solche mit Meerschweinchen. Es mufste zwar von vornherein wünschenswert sein, das Hauptversuchstier für Typhus genauer zu untersuchen, doch bereiteten bekanntlich die intravenösen Einspritzungen bei Meerschweinchen bis vor kurzem gewisse Schwierigkeiten. An sich ist ja eine derartige Einspritzung leicht durchführbar, aber sie setzt einen operativen Eingriff voraus, den man bei solchen Versuchen gern vermeidet. Erst die Einführung der Bazillen ins Herz, um deren Verbreitung sich Morgenroth[1]) ein dauerndes Verdienst erworben hat, gestattet nunmehr ein leichteres Arbeiten.

Die geringere Zahl der Meerschweinchenversuche wird durch ihre vollständige Übereinstimmung untereinander und mit den Ergebnissen am Kaninchen reichlich aufgewogen. Um die Bedingungen für eine Entfaltung bakterizider Erscheinungen möglichst günstig zu gestalten, wurde nicht nur die durch Tierimpfungen noch nicht virulenter gewordene Stammkultur in

1) Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 48, Nr. 2.

verhältnismäſsig kleinen Mengen verwendet, sondern es wurde auch Serum mit Bazillen vor der Einspritzung gemischt und ungefähr $^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dabei betrugen die Serummengen stets das Vielfache derjenigen, die bei Bauchhöhlenimpfungen vollständig schützten, während die Bakterienzahl meist unter der tödlichen lag.

Tabelle XIX.

Die Versuchsanordnung weicht nur insofern von der bei Kaninchen gewählten ab, als die zerriebenen und durch Draht gepreſsten Organe nicht in 15, sondern in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden. Wenn Knochenmark zur Verwendung kam, wurde das Mark beider Oberschenkel entnommen und wegen der geringen Menge desselben nur in 5 ccm Na Cl-Lösung verrieben. Je 1 ccm der Aufschwemmungen wurde zu Agarplatten verarbeitet.

Nr.	Einspritzung ins Herz	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
159	0,05 ccm Serum »Edgar« + $^1/_5$ Öse Typhusagarkultur »Stamm«	Nach 7 Std. verblutet	1 ccm Blut 472 Leber 2944 Milz 4960 Niere 6 Knochenmark 2	Das Tier war nicht krank, die Milz stark geschwollen und dunkel.
160	Wie 159 ohne Serum		1 ccm Blut 176 Leber 6304 Milz 3264 Niere 0 Knochenmark 120	Das Tier war nicht krank. Milz dunkel und vergröſsert.
161	0,15 ccm Serum »Edgar« + $^1/_{10}$ Öse Typhusagarkultur »Stamm«	Nach 8 Std. verblutet	1 ccm Blut 4 Leber 10 512 Milz 1856 Niere 12 Knochenmark 3712	Das Tier war nicht krank. Milz geschwollen.
162	Wie 161 ohne Serum		1 ccm Blut 35 Leber 8272 Milz 1744 Niere 0 Knochenmark 728	Wie 161.
218	0,2 ccm Serum »Edgar« + $^1/_2$ Öse Typhusagarkultur »Stamm«	Nach 8 Std. verblutet	1 ccm Blut 928 Leber ca. 18 000 Milz 5700 Niere 266	Tier nicht krank. Im Herzbeutel etwas geronnenes Blut. Milz vergröſsert.

Nr.	Einspritzung ins Herz	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
219	Wie 218 ohne Serum	Nach 3 Std. verblutet	1 ccm Blut 432 Leber ca. 15 000 Milz 8900 Niere 73	Tier nicht krank. Milz dunkel und stärker als bei 218 geschwollen.
189	0,075 ccm Serum »Edgar« + $^1/_8$ Öse Typhusagarkultur »Stamm«	Nach 18 Std. verblutet	1 ccm Blut 57 Leber 116 Milz 3 Niere 0 Knochenmark 300?	Keine Krankheit d. Tieres. Milz ganz dunkel.
199	Wie 189 ohne Serum		1 ccm Blut 66 Leber 12 Milz 0 Niere 0 Knochenmark 160	Das Tier war nach 18 Stunden ganz munter, wurde aber während der Vorbereitungen zum Entbluten so elend, dafs die Operation beschleunigt werden mufste.

Abgesehen vielleicht davon, dafs bei den schon nach kurzer Zeit getöteten Tieren 218 und 219 eigentlich höhere Keimzahlen hätten erwartet werden können, sind die gewonnenen Zahlen ganz eindeutig. In einem Falle, bei den Meerschweinchen 159 und 160, wurde auch das Serum der verbluteten Tiere auf seinen Gehalt an Immunkörpern geprüft, indem einerseits die blofse Stärke der Bakterizidie vergleichend festgestellt, anderseits versucht wurde, dem Serum von 160 durch Zugabe erwärmten Serums von 159 höhere Wirkungen zu verleihen. Nach beiden Richtungen hin erwies sich das Blut nach Immunserumeinspritzung als stark immunkörperhaltig.

Tabelle XX.

	Mäfsige Einsaat		Starke Einsaat	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum 159 (immun) . .	8 200 (für 1.–3.)	29	ca.57000 (für 1.–4.)	872
2. 1 » » 160 (Kontrolle) .		536		12 560
3. 1 » » 160 + 0,1 ccm Serum 159, $^1/_2$ St., 60° . . .		7		2 448
4. 1 ccm Serum 159, $^1/_2$ St., 60° .	7 688	üh. 20 000		---

Das Gesamtergebnis der Versuche läfst sich dahin zusammenfassen, dafs Typhusbazillen, die einmal in die Organe von Kaninchen und Meerschweinchen gelangt sind, nur verhältnismäfsig

langsam daraus verschwinden; die Einspritzung selbst großer Mengen bakteriolytischen Immunserums vermag das Verschwinden innerhalb der Grenzen der vorliegenden Versuche in keiner Weise zu beschleunigen, obwohl das Serum solcher Tiere außerhalb des Körpers Eigenschaften aufweist, wie sie zur Erzielung stärkerer Keimvernichtung geeignet erscheinen. Daraus folgt unmittelbar, daß die Bakteriolyse im Innern eines tierischen Körpers auch nicht entfernt so wie im Reagensglase (und der Bauchhöhle von Meerschweinchen) stattfinden kann.

b) Versuche mit Cholera.

Wie bereits erwähnt, war ursprünglich nur das Verhalten des Typhusbazillus zum Versuchsgegenstande ausersehen. Als aber ein genaueres Studium des Pfeifferschen Versuches, der bekanntlich an Typhusbazillen weit weniger glatt als an Choleravibrionen verläuft, die Heranziehung dieser letzteren Mikroorganismen nötig machte, schien es wünschenswert, sie auch in der schon für Typhus entwickelten Richtung zu prüfen. Dabei stellte sich als wichtigstes Ergebnis heraus, daß zwischen Choleravibrionen und Typhusbazillen, die in bezug auf die Verhältnisse der Immunität im wesentlichen als sehr nahestehend betrachtet werden, tiefgreifende Unterschiede bestehen müssen.

Zu allen Versuchen diente ein seinerzeit von Herrn Professor Pfeiffer erhaltener virulenter Cholerastamm. Durch längere Züchtung auf künstlichen Nährböden war seine ursprüngliche Virulenz gesunken und nur kleine Meerschweinchen wurden durch eine Öse bei Bauchhöhlenimpfung getötet. Nach wiederholten Impfungen stieg die Virulenz etwas, doch lange nicht so, wie dies bei Typhus leicht zu erreichen war. Auch jetzt ist $^1/_6$ Öse nur für kleine Tiere tödlich, solche von 400 g überstehen stets. Das ist eine seit langem bekannte Erscheinung.

Immunsera standen zwei zur Verfügung. Das eine, »Edith«, stammt vom Pferde und ist der Liebenswürdigkeit des Herrn Doz. Kraus zu verdanken, das andere, von einer Ziege stammend, kurz als »Serum Pfeiffer« bezeichnet, hat Herr Prof. Pfeiffer gütigst

überlassen.[1]) Beide Sera schützten Meerschweinchen in der Menge von 0,001 ccm vor einer Öse der virulent gewordenen Kultur ohne weiteres; unter diese Menge wurde in der Regel nicht herabgegangen.

Es hat wenig Zweck, die Versuche der Einführung von Choleravibrionen in die Blutbahn von Kaninchen (mit und ohne Immunserum) hier ausführlich wiederzugeben, da sich ihr Ergebnis dahin kurz zusammenfassen läfst, dafs bei Anwendung nicht allzugrofser Mengen die Vibrionen schon nach 3 Stunden vollständig verschwunden waren, gleichgültig ob dabei Serum angewendet wurde oder nicht. Bereits Jssaeff und Kolle[2]) hatten für normale Tiere im wesentlichen das Gleiche gefunden. Die bekannte Erscheinung, dafs bei einer solchen Impfung Vibrionen in den Darm übertreten, konnte natürlich für eine etwaige Keimzahlbestimmung keine Verwertung finden. Es wurden sechs Doppelversuche mit dem gleichen Befunde der Keimfreiheit der Organe angestellt. Angeführt sei davon ein Versuch, zugleich mit der Untersuchung der Bakterizidie im Reagensglase.

Tabelle XXI.

Kaninchen 53 erhielt 0,5 ccm Serum »Edith«, 1/4 Stunde später 1 Öse (der virulent gewordenen) Cholera iv. und wird 20 Stunden später ohne Krankheitszeichen verblutet. Die Keimzahlbestimmung in den Organen erfolgte wie bei Typhus nnd ergab weder im Blnte, noch irgendwo anders Vibrionen.

Kaninchen 54 ohne Serum, in der gleichen Weise behandelt, lieferte den gleichen Befund.

	Serum von Kaninchen 53 (immun)		Serum von Kaninchen 54 (Kontrolle)	
	sofort	nach 4 h	sofort	nach 4 h
1. 1 ccm Serum	1080	0	1008	0
2. 1 » » + Leber v. Kaninch. 53	1128	9	1280	2816
3. 1 » » + » » » 54	704	32	776	9840
4. 1 » » + Milz » » 53	1360	0	696	1784
5. 1 » » + » » » 54	1056	wenige[3])	1000	6320
6. 1 » » + Niere » » 53	912		1136	4104
7. 1 » » + » » » 54	1220	12	720	üb. 10000
8. 1 » » + Knochenm. v. K. 53	880	0	816	161
9. 1 » » + » » » 54	1024	0	1168	528

1) Nach einer dankenswerten Mitteilung von Herrn Dr. Friedberger enthielt dasselbe in 1 ccm 12—14000 I. E.

2) Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 18, S. 17.

3) Beide Platten stark vernnreinigt, enthielten aber sicher nur vereinzelte Cholerakolonien.

Auch hier tritt wie bei den Typhusorganversuchen der Unterschied im Verhalten des Serums übertragen immunisierter und normaler Tiere hervor, obwohl, wie es bereits Hoke begegnet war, die Aufhebung der Serumbakterizide durch die Organzellen nicht besonders stark ist.

Selbst bei Verwendung der für Meerschweinchen virulentesten Kultur, die zur Verfügung stand, und Ausdehnung des Versuches auf nur 2 Stunden vermochten kleinere Choleramengen sich im Körper nicht zu halten.

Kaninchen 78 erhielt in die eine Ohrvene 1 Öse virulenter Cholera, gleichzeitig in die andere 0,2 ccm Serum Pfeiffer und wird nach 2 Stunden verblutet. Blut und alle Organe mit Ausnahme der Milz, die 6 Kolonien lieferte, keimfrei.

Kaninchen 79 wie 78, aber ohne Serum behandelt, ist nach 2 Stunden überall keimfrei.

Erst wenn das Blut förmlich mit Vibrionen überschwemmt wurde, gelang es, Bazillen in grofser Zahl wiederzufinden, aber auch da nur bei kleineren Tieren von 1000 g und darunter (vergl. Issaeff und Kolle).

Kaninchen 81, 2130 g, erhält $^1/_2$ Agarkultur virulenter Cholera mit 0,25 ccm Serum Pfeiffer intravenös und wird nach 3 Stunden verblutet. Das Tier ist nicht sichtlich verändert, hat aber schwere, stinkende Durchfälle. Blut und alle Organe erweisen sich als keimfrei.

Kaninchen 82. 2080 g. Wie 81, ohne Serum behandelt, zeigt kein Krankheitszeichen, enthält aber ebenfalls in keinem Organe Vibrionen.

Kaninchen 76, 1000 g. $^1/_3$ Agarkultur virulenter Cholera iv. Nach $2^1/_2$ Stunden ohne Krankheitszeichen verblutet. Milz deutlich geschwollen. Organe in gewöhnlicher Weise, aber mit nur 10 ccm NaCl verarbeitet.

1 ccm Blut . . .	5 840	Niere	1 072
Leber	6 096	Knochenmark . .	219.
Milz	ca. 29 000		

Kaninchen 77, 960 g. $^1/_2$ Agarkultur virulenter Cholera mit 0,1 ccm Serum Pfeiffer iv. Scheint bei dem Verbluten nach $2^1/_2$ Stunden krank zu sein. Weder das Blut noch die Organe lieferten Cholerakolonien.

Bei den letzterwähnten beiden Kaninchen ist an der Wirkung des Serums im Innern des Körpers kaum zu zweifeln. Da aber einerseits die Verwendung so grofser Kulturmassen für Einspritzung in die Blutbahn kleiner Tiere nicht gleichgültig sein kann, anderseits bei dem raschen Absterben der Vibrionen auch

bei kleinen Tieren individuelle Verhältnisse stören könnten, so wurde, vorläufig wenigstens, von Versuchen an Kaninchen ganz abgesehen. Das konnte um so leichter geschehen, als inzwischen bereits im Meerschweinchen, bei Einimpfung der Kulturen ins Herz, ein geeignetes Tier gefunden war. Zwar kann es auch beim Meerschweinchen, wenn man längere Zeit verfliefsen läfst, sehr leicht zum völligen Veischwinden der Vibrionen ohne jedes Serum kommen, bei kürzerer Zeitdauer aber liegen die Verhältnisse, wie die folgende Tabelle zeigt, ziemlich klar.

Tabelle XXII.

Nr.	Einspritzung ins Herz	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
170	0,01 ccm Serum »Edith« + $^1/_{10}$ Öse Cholerakultur »Stamm«	Nach $^1/_2$ Std.	0,5 ccm Bauchhöhlen-flüssigkeit . 0 Leber . . . . 16 Milz . . . . . 0 Niere . . . 9	Das Tier war nach der Einspritzung ganz munter, wurde aber dann bald hinfällig und starb. Im Herzbeutel viel geronnenes Blut. Da nicht daran zu zweifeln war, dafs die Flüssigkeit wirklich ins Blut gekommen sein mufste, so hatte die kurze Zeit hingereicht, um fast alle Keime zu töten. In der Bauchhöhle des Tieres fand sich etwas klare Flüssigkeit, die untersucht wurde.
171	Genau wie 170	Nach 8 Stunden verblutet	Blut und alle Organe cholerafrei	Das Tier wurde als Ersatz für 170 sofort in Verwendung gezog. Milz dunkel.
172	0,01 ccm Serum Pfeiffer + $^1/_{10}$ Öse Chol.-Kult. »Stamm«		Nur im Knochenmark 2 Kolonien	Milz dunkel, geschwollen.
173	Wie 172, ohne Serum		Blut und alle Organe cholerafrei	Milz vergröfsert, dunkel.
175	0,01 ccm Serum Pfeiffer + $^1/_6$ Öse virulenter Cholerakultur	Nach 3 Std. verblutet	1 ccm Blut . . 3 Leber . . . . 3 Milz . . . 2 Niere 0	Keine Besonderheit zu bemerken.
174	Wie 175, ohne Serum		1 ccm Blut über 10 000 Leber . . . . 2 432 Milz . . . . . 9 600 Niere . . . 804	
178	$^1/_6$ Öse virulenter Cholerakultur	Starb nach 5 Stunden	0,25 ccm Herzblut ∞ 0,1 ccm Bauchhöhlen-flüssigkeit . . 9 Leber . . . . 1 120 Milz . . . . 4 856 Niere . . . . 584 Knochenmark . 1 936	Keine Verletzung am Herzen. In der Bauchhöhle einige Kubikzentimeter sehr wenig trüben Exsudates. Milz grofs, wie Leber und Niere sehr blutreich und ödematös.

Nr.	Einspritzung ins Herz	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
179	0,01 ccm Serum »Edith« + 1/6 Öse virulenter Cholera-kultur	Nach 5 Std. verblutet	1 ccm Blut . . 3 Leber . . . . 0 Milz . . . . . 0 Niere . . . . 0 Knochenmark . 0	Das Tier schien krank zu sein Milz deutlich vergröfsert.
180	1/10 Öse virulenter Cholerakultur	Nach 1 Std. verblutet	1 ccm Blut . . 24 700 Leber . . . . 824 Milz . . . . . 2 736 Niere . . . . 232 Knochenmark . 1 480	Milz dunkel, aber kaum vergröfsert, auch d. Niere blutreich.
181	0,01 ccm Serum »Edith« + 1/10 Öse virulenter Cholera-kultur		1 ccm Blut . . 0 Leber . . . . 192 Milz . . . . . 73 Niere . . . . 0 Knochenmark . 13	Nichts Besonderes.
183	0,005 ccm Serum »Edith« + 1/6 Öse virulenter Cholera-kultur	Verblutet nach 2 Stunden	1 ccm Blut . . 0 Leber . . . . 0 Milz . . . . . 0 Niere 0	Milz deutlich vergröfsert, dunkel.
184	Genau wie 183, mit Serum »Pfeiffer«		1 ccm Blut . . 216 Leber . . . . 17 Milz . . . . . 35 Niere 3	Nichts Besonderes.
185	Wie 183, ohne Serum		1 ccm Blut . . 848 Leber . . . . 109 Milz . . . . . 824 Niere 0	Milz grofs, dunkel.
196	0,0015 ccm Serum Pfeiffer + 1/10 Öse virulenter Cholera-kultur	Verblutet nach 6 St.	Blut und alle Organe cholerafrei	Keine Besonderheit.
197	Wie 196, ohne Serum		1 ccm Blut . . 30 Leber . . . . 0 Milz . . . . . 61 Niere . . . . 0 Knochenmark . 0	Milz dunkel, nicht vergröfsert.
201	0,01 ccm Serum Pfeiffer + 1/5 Öse virulenter Cholera-kultur	Nach 3 St. verblutet	Blut und alle Organe cholerafrei	Etwas Blut im Herzbeutel, das so wie das andere Blut keimfrei war.
200	Wie 201, ohne Serum		1 ccm Blut . . 4 976 Leber . . . . 9 Milz . . . . . 816 Niere 0	Auch bei diesem Tiere fand sich etwas locker geronnenes Blut im Herzbeutel, das keine Kultur lieferte, Milz vergröfsert, dunkel.

Nr.	Einspritzung ins Herz	Tot	Keimgehalt	Bemerkungen
207	0,01 ccm Serum Pfeiffer + $^1/_7$ Öse virulenter Cholera kultur	Nach $2^1/_2$ Stunden verblutet	Blut und alle Organe cholerafrei	Milz dunkel, aber kaum vergröfsert.
206	Wie 207, ohne Serum		1 ccm Blut . . ∞ Leber . . . . 23 400 Milz . . . . . 14 680 Niere 1 928	Das Tier war bald nach der Einspritzung aufserst hinfällig, erholte sich dann etwas und lebte in grofser Schwäche. Als Ursache fand sich eine Herzverletzung, viel Blut im Herzbeutel und in der Brusthöhle. Die Milz war vergröfsert und dunkel.
208	Wie 207, ohne Serum		1 ccm Blut . . 2 800 Leber . . . . 42 Milz . . . . . 2 640 Niere 12	Das Tier war als Ersatz für 206 benutzt worden, sobald sich bei diesem die Folgen der mifslungenen Einspritzung zeigten. Es wies keine Krankheitszeichen auf. Die Milz war dunkel und geschwollen.

Ein Blick auf diese Versuchsreihen zeigt sofort, dafs hier ganz andere Verhältnisse als bei Typhus vorliegen. Mit Ausnahme der Fälle, wo sich die Vibrionen überhaupt nicht halten konnten, weisen überall die Serumtiere einen weitaus niedrigeren Keimgehalt auf als die Kontrollen, und in vielen Fällen sind überhaupt keine lebenden Vibrionen mehr nachzuweisen gewesen. Es ist somit an der auch im Tierkörper vollständig und offenbar sehr rasch ausgeübten Keimvernichtung durch die Sera »Edith« und »Pfeiffer« nicht zu zweifeln. Ebenso sicher ist es von vornherein, dafs eine schützende Wirkung des Serums bei Einspritzung der Vibrionen auf diese umfangreiche und schnelle Zerstörung der Bakterien zu beziehen sein wird.

Worin aber ist der tiefgehende Unterschied gegen die Typhusversuche begründet, und warum wirkt ein Typhusserum mit seinen ausgesprochenen bakteriolytischen Fähigkeiten nicht annähernd so wie die Cholerasera?

Hierüber gibt eine Betrachtung des Keimgehaltes der Organe bei den Kontrolltieren Aufschlufs. Vorausgesetzt nämlich, dafs nicht eine vollständige Überschwemmung des Körpers mit den gezüchteten Vibrionen erfolgt, finden sie sich in gröfster Zahl nur im Blute, in den Organen aber nicht. Eine genaue Betrachtung der Keimzahlen lehrt sofort, dafs die Organe ziemlich genau

nach Mafsgabe ihres Blutreichtums auch Bakterienkolonien liefern. Im Blute selbst entscheidet sich dann auch das Schicksal der Vibrionen, das (immer mäfsige Mengen vorausgesetzt) aller Wahrscheinlichkeit nach nicht Vermehrung, sondern meistens Abtötung ist. Es ist angesichts der raschen Abnahme sehr wahrscheinlich, dafs diese Vernichtuug tatsächlich durch die gleichen Eigenschaften der Körperflüssigkeiten erfolgt, die im Reagensglase als Bakterizidie zu beobachten sind, und dafs die Einführung von Immunserum hier wie dort eine Steigerung an Schnelligkeit und Umfang der Vibrionenzerstörung bedeutet.[1]) Denn wie bereits eine Erwägung bei den in diesem Punkte ganz vergleichbaren Milzbranduntersuchungen ergeben hatte, sind die gröfseren Gefäfse neben den geschlossenen Körperhöhlen der einzige Ort, wo im Körper etwas der Reagensglasbakterizidie Entsprechendes möglich erscheint. Choleravibrionen und, wie man wohl ohne Gefahr allzuschneller Verallgemeinerung sagen darf, auch andere Bakterien, die nicht die Fähigkeit haben, über das Blut hinaus vorzudringen, werden somit tatsächlich den keimtötenden Eigenschaften der Körperflüssigkeiten unterliegen. Diese finden hier das Gebiet ihrer Wirksamkeit, zugleich aber auch die Grenze dieses Gebietes.

Denn schon eine ganz einfache Vergleichung der Typhus- und Choleraversuche zeigt, dafs bei Typhus ganz andere Verhältnisse vorliegen. Schon nach kurzer Zeit ist die Zahl der Bakterien im Blute stark herabgesunken, dafür sind die Organe, die Leber meist vorauf, bakterienreich geworden. In diesen hört aber die Wirksamkeit der Serumbakteriolyse sofort auf, und die Zufuhr von Immunserum kann sie natürlich auch nicht ermöglichen. Eine genaue Gewebsuntersuchung müfste feststellen, wie das Vordringen der Typhusbazillen in Kaninchen- und Meerschweinchenorgane aufzufassen ist, ob es sich um einen wirklichen Einbruch in Gewebsspalten handelt oder um ein Festsetzen in feinsten Kapillarenden o. dgl.

1) Vgl. aber dazu die Ausführungen Metschnikoffs und die Versuche von Levatidi, wonach auch im strömenden Blute starke und wirksame Phagozytose stattfindet.

Diesen Verhältnissen wird später noch eine eingehendere Besprechung gewidmet werden müssen. Inzwischen gilt es aber, die erwähnten Folgerungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen, was durch folgende Erwägung möglich erschien. Wenn wirklich der Typhusbazillus durch seinen Eintritt in die Organe und nur dadadurch vor der vereinten Wirkung des Immunserums und des Blutes geschützt ist, so müfste dasselbe auch beim Choleravibrio der Fall sein, wenn es nur gelingt, ihn in die Gewebe eines Tieres hineinzubringen. Ohne Mühe liefs sich dies zeigen, sobald die Mischung von Immunserum und Vibrionen direkt in Organe eingespritzt wurde. Das geeignetste Versuchsorgan ist die Kaninchenniere, die sich von aufsen mit Leichtigkeit umgreifen und festhalten läfst, so dafs weder Narkose noch ein Einschnitt notwendig wird. Schwieriger gelingt dies beim Meerschweinchen; die Niere ist hier viel schwerer festzustellen, und es mufs das Tier in leichter Äthernarkose gehalten werden, da ein stärkeres Festhalten bei kleinen Bewegungen des Körpers sehr leicht zu Luxationen der Niere führen kann. Auch die Blutung nach dem Einstich, der wegen der Dicke der Haut grofser Meerschweinchen nur nach einer Durchtrennung der Haut leicht gelingt, ist hier meist stark und oft tödlich. So kam es, dafs von sechs Meerschweinchenversuchen nur zwei brauchbar waren; die vier anderen Tiere starben bald nach dem Eingriffe. Doch erschienen auch diese zwei Versuche wegen ihrer vollständigen Übereinstimmung mit denen am Kaninchen hinreichend zu sein.

Die Gesamtmenge der eingespritzten Flüssigkeit betrug 0,05—0,1 ccm. Die Bazillenzahl war verhältnismäfsig klein, die Serummenge grofs. Mit Vorliebe wurde der wenig virulente »Stamm« benutzt, wobei Bazillen und Immunserum mindestens ½ Stunde vor ihrer Verwendung gemischt wurden, um für eine etwaige Bakterizidie recht günstige Vorbedingungen zu schaffen. Die Keimzahlbestimmung erfolgte so, dafs die ganzen Nieren, die ganze Milz und der Nierengröfse entsprechende Leberstücke zerrieben, durch Draht geprefst und in 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung verteilt wurde. 1 ccm wurden davon zur Agarplatte verarbeitet.

Nr.	Einspritzung in die linke Niere	Tod	Keimgehalt	Bemerkungen
Kanin. 70	0,002 ccm Serum »Edith« + 1/25 Öse Cholerakultur	Stirbt nachts nach ca. 12 Std.	Linke Niere 13 260 Rechte » 424	Die Organuntersuchung fand etwa 6 Std. nach dem Tode statt. In der Bauchhöhle fanden sich einzelne kleine Blutgerinnsel. Kleine Blutung unter der Nierenkapsel. In der Niere eine ungefähr stecknadelkopfgrofse, mit geronnenem Blut gefüllte Höhlung.
71	0,01 ccm Serum »Pfeiffer« + 1/30 Öse Cholerakultur	nach 3 Std. verblutet	Linke Niere 31 420 Rechte » . 0 Leber . . 0 Milz . . . 0 1 ccm Blut . 0	Winzige Blutung an der Einstichstelle unter die Nierenkapsel. Keine mit freiem Auge sichtbare Gewebszertrümmerung.
72	0,02 ccm Serum »Pfeiff.« + 1/50 kleine Öse (nicht ganz 1 mg) Cholerakultur	nach 3½ Std. verblutet	Linke Niere . 38 Übrige Organe und Blut 0	Geringe Blutung unter der Kapsel. Sehr kleine, blutgefüllte Höhlung in der Nierenrinde.
73	Wie Kan. 72 mit 0,02 ccm Serum »Edith«	nach 10 Std. dch. Nackenschlag getöt. Herz sofort aufgeschnitt.	Linke Niere 19 Übrige Organe und Blut 0	Geringe Kapselblutung; am Grunde der Papille ein winziger, mit geronnenem Blute erfüllter Herd. Die gleiche Menge der in die Niere eingespritzten Flüssigkeit wurde mit 15 ccm NaCl-Lösung vermischt. 1 ccm davon ergab 47 Kolonien.
74	0,01 ccm Serum »Edith« + 1/30 Öse Cholerakultur	nach 10 Std. dch. Nackenschlag getöt. Herz sofort eröffnet	Linke Niere 27 200 Übrige Organe und Blut 0	Sehr kleine Kapselblutung. Niere hyperämisch, aber ohne sichtbaren Zertrümmerungsherd.
75	Gleichzeitig und genau wie Kan. 74 m. d. gleichen Menge v. Serum »Pfeiffer«		Linke Niere 32 864 Übrige Organe und Blut 0	Winzige Kapselblutung. Mohnkorngrofser blutiger Herd in der Rinde. Eine wie bei Kan. 73 angestellte Keimzahlbestimmung der eingespritzten Flüssigkeit lieferte im Mittel 90 100 Kol.
Meerschw. 209	0,005 ccm Serum »Edith« + 1/60 Öse Cholerakultur	nach 3 Std. verblutet	Linke Niere 7136 Milz . . . 3 Übrige Organe und Blut 0	In der Bauchhöhle ungefähr 3 ccm halbflüssiges Blut. Mäfsige Blutung unter die Kapsel. Kein mit Blutgerinnsel erfüllter Zertrümmerungsherd. Milz dunkel und deutlich geschwollen.
221	0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1/75 Öse Cholerakultur	nach 5 Std. verblutet	Linke Niere 936 Übrige Organe und Blut 0	Kleine Kapselblutung. Sehr kleine mit Blut erfüllte Höhle in der Niere.

Es hört somit auch für die so empfindlichen Choleravibrionen die Bakteriolyse im Gewebe auf. Allerdings gelang die Einspritzung nur in einem Bruchteil der Fälle so gut, dafs dabei mit freiem Auge sichtbare Zertrümmerungen des Nierengewebes vermieden wurden. Es liegt daher der Einwand nabe, dafs es sich nicht um eine Störung der Immunserumwirkung, sondern um eine solche des Komplements nach den bekannten Versuchen Wildes gebandelt habe. Hier ist es aber ziemlich gleichgültig, ob Immunkörper oder Komplement wirkungslos wurden: die Tatsacbe des Ausbleibens der Bakteriolyse, mag sie durch was immer veranlafst sein, ist hier das Wesentliche und die Übereinstimmung die, darnach zwiscben den sonst so verscbiedenen Verhalten der Typhusbazillen und Cboleravibrionen sofort eintritt.

War somit durch diese Versuche die Grenze der Wirkungsmöglichkeit der bakteriziden Bluteigenschaften festgestellt und nachgewiesen, dafs wirklich die Bakterizidie im Körper kein allgemeiner, sondern ein unter bestimmten Bedingungen eintretender Vorgang sei, so schien dennoch noch nicht der naheliegende Schlufs gerecbtfertigt, dafs gesteigerte Bakteriolyse nicht die Ursache einer wahren Immunität sein könne. Man brauchte ja nur auf die Tatsache hinzuweisen, dafs die spezifische Bakteriolyse gar nicbt zuerst als Reagensglaserscheinung, die sie im wesentlichen bleibt, aufgefunden wurde, sondern im Tierkörper selbst, in der Baucbhöhle des Meerschweinchens. Der Ausgangspunkt der Lehre war das Studium der intraperitonealen Infektion und ihrer Verbinderung durch Immunisierung. Desbalb mufste eigens und eingehend untersucbt werden.

B. Der Pfeiffersche Versuch.

Derselbe ist bereits Gemeingut der Immunitätslehre geworden und seine Ausführung wird in jedem über das Einfachste hinausgehenden bakteriologischen Lehrgang besprocben, so dafs über Bedeutung desselben und Versuchsanordnung, die sich ganz an die üblicbe anschlofs, nichts zu sagen ist. Es wurde Typhus wie Cholera untersucbt, dort wo es auf schnellen und glatten Verlauf der Bakteriolyse ankam, Cholera vorwiegend. Dabei

wurden der Vorschrift nach, fast stets Meerschweinchen von 200 bis 250 g verwendet, für Typhus auch gröfsere.

Das Hauptsächliche des Pfeifferschen Versuches ist bekanntlich das Unbeweglichwerden, der Zerfall der Bakterien zu Körnchen und ihre schliefsliche Auflösung. Damit ist aber noch nicht alles gesagt; es mufs vielmehr hinzugefügt werden: ohne Mitwirkung von Zellen und in verhältnismäfsig kurzer Zeit. In letzterer Hinsicht mufs man freilich schon bei Typhus etwas nachsichtiger sein. Denn dafs hier die Körnchenbildung und Auflösung lange nicht so regelmäfsig und schnell verläuft wie bei Cholera, ist längst bekannt. Es ist zwar durchaus nicht nötig, wie von mancher Seite vorgeschlagen wurde, nur das Ende des Versuches, d. h. das Überleben des Versuchstieres als beweisend für einen gelungenen Pfeifferschen Versuch auzusehen: bei geringer Übung merkt man an der Abnahme der sichtbaren Bazillen und dem Ausbleiben der sonst sofort auftretenden Vermehrung ohne weiteres die Serumwirkung, selbst wenn Quellung und Körnchenbildung der Bazillen nicht auffallen sollten. Immerhin ist es richtig, dafs selbst bei hochwirksamem uud überschüssigem Serum noch nach zwei und selbst drei Stunden wohlerhaltene Typhusbazillen aufzufinden sein können, dann meist in Form von kurzen, oft parallel aneinander gelagerteu Ketten.

Im ganzen verläuft aber auch bei Typhus der Pfeiffersche Versuch iu der unveränderten Bauchhöhle übertragen immunisierter Meerschweinchen nach den oben angeführten Regeln. Anders schon im Unterhautzellgewebe. Hier hatten Taurelli-Salimbeni uud Metschnikoff bereits vor längerer Zeit gezeigt, dafs eine Auflösung nicht stattfinde, sondern nur Phagozytose, uud Pfeiffer stimmte bei Wiederholung des Versuches mindestens darin mit Metschnikoff überein, dafs die Körnchenbildung sehr verspätet stattfinde. In eigenen Versuchen, die nicht zahlreich waren, wurde binnen 3 bis 4 Stunden keine oder nur sehr geringe Granulabildung im Unterhautgewebe der Leistengegend von Meerschweinchen, die 24 Stunden vorher reichlich Serum an anderer Stelle erhalten hatteu, beobachtet. Die Vibrionen wurdeu bewegungslos und blieben, wie es schien, einfach

liegen. Es wurde aber kein einziger Versuch richtig zu Ende geführt, weil Blutungen, die nach den Vorschriften streng zu vermeiden sind, immer eintraten und fortgesetzt stärker wurden. Es erfolgte übrigens auch darnach, wenigstens innerhalb kürzerer Zeit, keine Körnchenbildung irgend erheblichen Grades, wohl aber wurde die Beobachtung schwierig und unsicher. Wie dem auch sei, jedenfalls findet der Pfeiffersche Versuch im Zellgewebe nicht so statt wie in der Bauchhöhle, und es dürfte wohl gestattet sein, hier an die Nierenversuche mit Cholera zu erinnern, die damit eine sofort auffallende Ähnlichkeit haben.

Es erscheint durchaus denkbar, dafs sich das Unterhautzellgewebe zunächst wie ein Organ verhält, in dem die Vibrionenauflösung nicht stattfindet. War aber durch die gewaltsame Einspritzung ein Hohlraum geschaffen, in den nach und nach zellfreie Körperflüssigkeit eintreten konnte, so war damit der geschlossene Raum hergestellt, der so wie die Meerschweinchenbauchhöhle zur Entfaltung von Bakteriolyse erst die Bedingungen bietet. Die Verzögerung derselben wäre dann durch die sich erst allmählich einstellende Körperflüssigkeit erklärt. Bleibt sie ganz aus, so erfolgt, wie bei Metschnikoffs Versuchen, überhaupt keine Körnchenbildung, sondern langsame Phagozytose.

Für die Meerschweinchenbauchhöhle ist die rasche, aufserhalb von Zellen stattfindende Vibrionenauflösung sofort zu sehen, ob es sich nun um eigene oder übertragene Immunität handelt. Indessen hat auch hier Metschnikoff gezeigt, dafs sie zwar erfolgen kann, aber nicht erfolgen mufs. Die Versuchsanordnung, die es wohl verdient, als Metschnikoffscher Versuch dauernd bezeichnet zu werden, besteht darin, dafs durch eine vorangehende Reizung der Bauchhöhle Leukozyten in grofser Zahl in ihr angesammelt werden. Erfolgt jetzt erst die Einspritzung der Vibrionen, so tritt zwar schnelle und ausgiebige Phagozytose, aber keine Auflösung aufserhalb der Zellen ein. Der Metschnikoffsche Versuch wurde teils bestätigt (Bordet, Levatidi[1]), teils nicht (Pfeiffer, Abel, Ascher, Wolff[2]).

1) Siehe Metschnikoff, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.

2) Siehe Pfeiffer, Zentralbl. f. Bakteriol., XXXV, Referate Nr. 7—9.

Die jüngsten Veröffentlichungen von Metschnikoff und Pfeiffer betonen neuerlich den schroffen Widerspruch. Ein solcher, der nicht Versuchsdeutungen, sondern Versuchstatsachen zum Gegenstande hat, kann, wie bei der Autorität beider Forscher von vornherein klar ist, nur darin seinen Grund haben, dafs die von dem Einen angegebene Versuchsanordnung von dem Andern nicht eingehalten wurde oder nicht eingehalten werden konnte. Da aber das Bestreben danach, z. B. in der Untersuchungsreihe von Ascher[1]) wiederholt betont wird, so mufs der Grund der abweichenden Ergebnisse in kleinen, nicht leicht zu findenden Abweichungen gelegen sein. Der Widerspruch in den Angaben über den Metschnikoffschen Versuch war zuerst aufzuklären.

Denn die Wichtigkeit dieses Versuches ist, abgesehen von seiner Beziehung zur Phagozytose, sehr grofs. Dafs Choleravibrionen oder Typhusbazillen in der Bauchhöhle übertragen immuner Meerschweinchen aufgelöst werden, kann jeder jeden Tag unmittelbar sehen, und nichts ist natürlicher, als das Überleben der Tiere und ihre Immunität auf diese Auflösung ursächlich zurückzuführen. Wenn es demgegenüber auch nur ein einziges Mal gelingt, zu zeigen, dafs das Pfeiffersche Phänomen, d. h. die in kurzer Zeit aufserhalb von Zellen erfolgende Bakterienvernichtung ausbleibt, und dafs das Tier dennoch weiterlebt, so beweist dies auf das Sicherste, dafs die Bakteriolyse nicht die Ursache der Immunität ist, oder wenigstens nicht die einzige.

Nicht minder wichtig ist ein anderer, vom entgegengesetzten Standpunkte ausgehender Beweis gegen den Pfeifferschen Versuch, der im folgenden geführt werden soll. Wenn es durch irgendeine Versuchsanordnung gelingt, übertragen immunisierte Tiere mit verhältnismäfsig geringen Bazillenmengen, die sonst unter dem Einflusse des Serums schadlos vertragen werden, zu töten, obwohl die Auflösung aufserhalb der Zellen vollständig erfolgt oder neben der Bazillenvermehrung andauernd aufzufinden

1) Ascher, Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt., Bd. 32, S. 449.

ist, so kann die Einführung des bakteriolytischen Immunserums keine wahre Immunität hervorgebracht haben.

Dazu kommt dann noch ein dritter Beweis, der zu dem gleichen Schlusse führt wie der zweite, der sich aber bisher nur für den Typhusbazillus, nicht für den Choleravibrio hat führen lassen. Er besteht darin, dafs bei geeigneter Versuchsanordnung die Bakterienauflösung trotz reichlichster Serummengen ausbleibt und auch durch nichts anderes ersetzt wird. Das Immunserum gibt keinen Schutz.

Gelingen diese Beweise, so ist der Pfeiffersche Versuch nicht widerlegt: etwas, was jeden Augenblick gesehen werden kann, ist nicht zu widerlegen. Aber er wird dann zu deuten sein als das, was er wirklich ist, nämlich eine in den Tierkörper verlegte und hier durch besondere Umstände, wie im Blute von Choleratieren ermöglichte Reagensglaserscheinung. Erst dann wird die Beantwortung der Frage möglich sein, ob er in einer ursächlichen Beziehung zur Immunität steht und in welcher, und ob hier nicht nur eine scheinbare Immunität vorliegt; so etwa wie man von Scheinimmunität sprechen müfste, wenn gleichzeitig mit den Bazillen ein chemisches Mittel eingespritzt werden könnte, das sie abtötet, ohne den Tierkörper sonst zu schädigen.

Dafs die Bedingungen, welche die normale Meerschweinchenbauchhöhle darstellt, denen des Reagensglasversuches ähneln, hat bereits Wechsberg gelegentlich angedeutet. Die Ähnlichkeit wird aber noch weit gröfser, wenn man Umstände, die Metschnikoff mehrfach hervorgehoben hat, mit berücksichtigt. Die Bauchhöhle ist ein geschlossener Raum, der eine gewisse, nicht grofse Menge Körperfeuchtigkeit und in ihr eine Anzahl weifser Blutkörperchen enthält, in den aber mit Leichtigkeit neue Körperflüssigkeit und neue Zellen eintreten können. Eine einfache Beobachtung lehrt nun, dafs fast unmittelbar nach Einspritzung von Bakterien die Zellen verschwinden, während sich die Flüssigkeit rasch vermehrt. Es dauert längere Zeit, ehe neue Leukozyten auftreten, und wenn nur die Bakterienzahl grofs genug war, so bleiben sie überhaupt spärlich. Ein geschlossener, auf 37° erwärmter Raum mit einer dem Serum entsprechenden

Flüssigkeit, die sehr zellarm ist, erfüllt — viel anders könnte man auch das zum bakteriziden Versuche dienende Reagensglas nicht beschreiben. Gerade unter solchen Umständen, d. h. in der Zeit, wo frische Zellen in die Bauchhöhle noch gar nicht übertreten, spielt sich der in vorgeschriebener Weise mit hinreichenden Serummengen angestellte Pfeiffersche Versuch ab.

Ehe die erwähnten drei Beweise geführt werden, dürfte es gut sein, kurz auf das Verhalten und die Befunde bei normalen, in die Bauchhöhle mit Typhus und Cholera geimpften Meerschweinchen einzugehen, nicht so sehr um Neues zu bringen, als um das für spätere Erörterungen Wesentliche hervorzuheben. Für diesen Fall kann man ruhig Typhus und Cholera zusammen besprechen, da sich ja, ungefähr gleiche Virulenz und Menge beider vorausgesetzt, der Krankheits- und Todesbefund durch nicht viel mehr unterscheidet als dadurch, dafs die Erreger das eine Mal dick und gerade, das andere Mal dünn und krumm sind. Wie bereits durch die wichtigen Untersuchungen von Pfeiffer und seinen Mitarbeitern seit langer Zeit bekannt ist, wechselt Krankheits- und Todesbild je nach der Menge der eingespritzten Bazillen. Natürlich ist es nicht die Menge allein, auf die es ankommt. Gröfsere Zahl der Bazillen kann durch eine kleinere Zahl bei gesteigerter Virulenz ersetzt werden und umgekehrt. Anderseits kann bei grofsen Mengen virulenter Bazillen das Bild der verhältnismäfsig schwachen Infektion dadurch erzeugt werden, dafs Zellen durch vorhergehende Bouilloneinspritzung u. dgl. angesammelt werden, während bei geringer Menge oder Virulenz der Befund schwerster Infektion entsteht, wenn man die Zellen aus der Bauchhöhle fernhält. Denn die Anzahl der Leukozyten verschiedener Art ist es, welche die Verschiedenheiten im Todesbefunde der erlegenen Tiere bedingt, und man kann geradezu sagen, dafs die Zahl der in der Bauchhöhle befindlichen Zellen sich umgekehrt verhält wie die Schwere der Infektion.

Ist die Menge der Bazillen sehr grofs gewesen, so enthält die Bauchhöhle der meist nach weniger als 12 Stunden gestorbenen Tiere ein verhältnismäfsig wenig trübes und dickes Ex-

sudat, meist in grofser Menge. Die Trübung wird fast ganz durch die in ungeheurer Zahl vorhandenen Bakterien veranlafst, Zellen sind daran nur wenig beteiligt; es handelt sich um Lymphozyten und kleine polynukleäre Zellen mit fehlender oder ganz schwacher Phagozytose. Auflagerungen auf Leber, Netz und Milz fehlen in den reinsten Fällen ganz, sonst sind sie wenig entwickelt, fibrinös und zellarm. Was von Zellen darin vorhanden ist, sind Makrophagen und grofse polynukleäre Leukozyten[1]): Phagozytose fehlt kaum jemals ganz, kann aber nur sehr schwach ausgebildet sein.

Statt grofse Mengen verhältnismäfsig wenig virulenter Bakterien zu nehmen, kann man das gleiche Bild, das dem Pfeifferschen IV. Stadium der Cholerainfektion entspricht, durch kleinere von hochvirulenten Bazillen hervorrufen. Das Gleiche gelingt auch mit kleinen Mengen wenig virulenter Erreger, wenn man die Leukozyten von der Bauchhöhle fernzuhalten vermag.

Einen sehr abweichenden Befund mit dickem, trüben Exsudate (bei Cholera meist reichlicher als bei Typhus), reichlichen, dicken Eiterauflagerungen auf Netz, Milz, Leber, und oft auch mit weifsen, weichen Eiterflocken auf den Därmen, erhält man

1) Metschnikoff versteht bekanntlich unter Makrophagen grofse, plasmareiche, mononukleäre Leukozyten, ohwohl kaum zu zweifeln ist, dafs er auch das, was hier als grofse polynukleäre Zellen bezeichnet ist, unter die Makrophagen rechnet. Für das Folgende werden, nicht etwa als Ergebnis eingehendere Zellstudien, sondern nur der Unterscheidung halber nachstehende Formen gesondert erwähnt: 1. Lymphozyten, im gewöhnlichen Sinne gebraucht. 2. Kleine polynukleäre Leukozyten mit gekerbtem bis geteiltem und gelapptem Kern, verhältnismäfsig schwachem Protoplasmasaume, der sich mit Löfflerblau deutlich färbt. 3. Grofse polynukleäre Leukozyten mit weitgehend gelapptem, manchmal zerteiltem Kern und viel Protoplasma, das aber nur an den Umrissen oder der Phagozytose zu erkennen ist, weil es durch Löfflerblau fast gar nicht gefärbt wird, auch verdünntes Karbolfuchsin (nach Radzievsky) weit schwächer als das Plasma, der kleinen polynukleären aufnimmt. 4. Makrophagen, grofse einkernige Zellen, deren reichliches Plasma sich deutlich, wenn auch verhältnismäfsig schwach färbt; das Chromatin des Kernes ist offenbar viel lockerer als bei den anderen Zellformen angeordnet. Als Phagozyten wirken alle diese Zellformen mit Ausnahme der Lymphozyten, weitaus am stärksten die grofsen polynukleären, sowohl für Typhusbazillen als für Choleravibrionen.

bei Anwendung einfach tödlicher Mengen von Bakterien oder geringer Vielfacher derselben, ferner dann, wenn bei erhöhter Resistenz (durch Bouilloneinspritzung) die erfolgreiche Infektion durch gesteigerte Bazillenmenge oder durch Lähmung der schützenden Eigenschaften der Leukozyten erzwungen wird. Im wesentlichen entspricht dies dem Pfeifferschen III. Stadium, nur daſs es sich dabei bei normalen Tieren niemals um eine keimfreie oder auch nur keimarme Bauchhöhle gehandelt hat; das mag damit zusammenhängen, daſs auf Auffindung und Anwendung der knappen tödlichen Bazillenmenge kein Gewicht gelegt wurde. Resistente Tiere, denen viel gröſsere als die tödlichen Gaben beigebracht worden waren, zeigten öfter eine bazillenfreie Bauchhöhle. Einer der wichtigsten Punkte bei diesen Versuchen ist das Verhalten der Leukozyten und ihrer Phagozytose, die namentlich bei der leichteren Infektion eine groſse Rolle spielt. Besonders in den Eiterflocken und Auflagerungen findet man oft nicht eine der am häufigsten vorhandenen groſsen polynukleären Zellen, die nicht als Freſszelle wirken würde. Die in Leukozyten aufgenommenen Bakterien sind beim toten Tiere nur in der Minderzahl noch als solche zu erkennen, viel mehr sind in verschiedener Weise gequollen, der gröſste Teil ist zu den ausgesprochenen Körnchen wie im Pfeifferschen Versuch umgewandelt, was sowohl für Typhusbazillen als für Vibrionen gilt. Wenn auch die Bauchhöhlenflüssigkeit groſse polynukleäre Zellen reichlich enthält, so macht es, namentlich bei Typhus, einen tiefen Eindruck, zu sehen, wie nur innerhalb der Zellen die Körnchenbildung vorliegt, während auſserhalb, dicht gedrängt, völlig normale Bazillen liegen. Daran ändert auch die Karbolfuchsinlösung Radzievskys nicht viel, denn beim toten Tiere sind Quellungen etc. an freien Bazillen nicht mehr viel zu sehen. Anders ist dies im Eiter des Leberrandes. Hier sieht man oft schon mit gewöhnlicher Löfflerblaufärbung, die am besten bis auf $^1/_2$ Stunde ausgedehnt und warm durchgeführt wird, zahlreiche freie, zwischen den Zellen liegende Bakterien in verschiedensten Entartungsformen, der Mehrzahl nach als die bekannten Körnchen. Die mikroskopische Untersuchung solcher

jeden Augenblick zu erzeugender Verhältnisse führt fast allein schon zu der Überzeugung, dafs es die Zellen sind, welche bis zum letzten Augenblicke sich der Vermehrung der Bazillen durch ihre Aufnahmsfähigkeit und eigene Verdauungskraft entgegenzustellen versuchen, und dafs sie wenigstens in den eitrigen Auflagerungen durch eine Art Ausscheidung ihrer Verdauungssäfte auch freie Bazillen zur Entartung bringen. Das wird bekräftigt durch die Untersuchung besonderer Fälle, wie sie namentlich dann eintreten, wenn nach vorhergegangener Bouilloneinspritzung durch Verwendung grofser Bakterienmengen der Tod herbeigeführt wird. Dann findet man ziemlich regelmäfsig auf und zwischen den Därmen weiche, gröfsere Eiterflocken; fertigt man von diesen Ausstriche an, mit der Vorsicht, nichts von dem anhaftenden Exsudate auf das Präparat zu bringen, so sieht man dichtgedrängt grofse, polynukleäre Leukozyten mit stärkster Körnchenphagozytose; zwischen den Zellen findet man dann überhaupt keine Bazillen mehr oder sie sind so spärlich, dafs sie wohl aus noch anhaftenden Resten des Exsudates stammen könnten. Besonders schön wurde solches mehrfach bei Typhus beobachtet, und es beweist, dafs selbst in der von Bakterien wimmelnden Bauchhöhle, trotz Krankheit und Tod des Tieres, Orte begrenzten Umfanges vorkommen können, wo die Bazillen nicht aufzukommen vermögen. Das kann aber nur durch Zellphagozytose und sicher nicht durch die aufserhalb der Zellen erfolgende Bakterienentartung erfolgt sein, die Radzievsky[1]) beschrieb. Am noch lebenden Tiere verfolgt, konnten die Ergebnisse Radzievskys durchaus bestätigt werden; schon in den ersten Stunden nach der Infektion, wo von einer Zellwirkung aus Mangel an Zellen noch nicht die Rede sein konnte, fanden sich, bei Typhus weniger, bei Cholera reichlicher, Entartungserscheinungen der verschiedenen von Radzievsky beschriebenen Formen vor. Aber niemals erreichten dieselben eine besondere Ausdehnung gegenüber der Zahl der normal bleibenden und sich sofort vermehrenden Bazillen, und vollends konnte nie der

1) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 37, S. 1.

Eindruck gewonnen werden, dafs es etwa diese aufserhalb der Zellen entstandenen Entartungsformen seien, welche nachträglich von Leukozyten aufgenommen würden, so dafs nach einem bekannten Worte die weifsen Blutkörperchen nichts anderes wie Totengräber für auf andere Weise zerstörte Bakterien wären. Namentlich bei Typhus können die von Radzievsky beschriebenen Erscheinungen auch bei genauester Einhaltung seiner Färbungsweise so schwach entwickelt sein, dafs man ihnen schwerlich eine besondere Bedeutung beilegen kann; reichlicher treten sie bei Choleravibrionen auf, im ganzen bleibt aber, soweit eigene Erfahrungen reichen, der Satz aufrecht, dafs Zerstörungen von Bazillen aufserhalb der Zellen nur im bakteriolytisch immunen Tiere in bedeutungsvollem Umfange beobachtet werden können. Für das normale Tier hingegen weist der Wechsel des Zellbefundes und der Phagozytose mit der Schwere der Infektion, die erhöhte Resistenz mit erhöhter Leukozytenzahl und stärkster Phagozytose, endlich der unmittelbare Eindruck bei einfacher mikroskopischer Betrachtung auf die grofse Bedeutung der Zellen als Schutzvorrichtungen des Körpers hin, und das, was man von Leukozytenwirkung sehen kann, ist eben immer nur Phagozytose.

Nach diesen, für das Folgende nicht unwichtigen Bemerkungen kann nunmehr die Beweisführung gegen die Bedeutung des Pfeifferschen Versuches aufgenommen werden.

Der erste Beweis; der Metschnikoffsche Versuch.

Es ist nicht nötig, die vielen Versuche einzeln anzuführen, die angestellt wurden, um den Widerspruch der bezüglich dieses Versuches bei Verwendung von Choleravibrionen besteht, aufzuklären. Es genügt, das schliefsliche Ergebnis mitzuteilen. Solange nach der von Metschnikoff gegebenen Vorschrift die Versuchstiere (Meerschweinchen von 200 g) durch einmalige Vorbehandlung in einen Reizzustand der Bauchhöhle versetzt waren, fand zwar regelmäfsig starke Phagozytose statt, aber die Hauptwirkung des Serums blieb die gleiche wie bei einem gewöhnlichen Pfeifferschen Versuche: die unvergleichlich gröfsere

Zahl der Vibrionen wurde aufserhalb von Zellen nach der stets beobachteten Weise mit Körnchenbildung aufgelöst. Dabei wurde zur Vorbehandlung der Tiere frische und ältere Bouillon, mit Wittes und Chapoteaus Pepton, Stärkekleister, Aleuronat verwendet, immer mit dem gleichen Ergebnisse. Eine zellanlockende Wirkung übten alle diese Stoffe aus, meist so stark, dafs der von Ascher gebrauchte Ausdruck »massenhafte Leukozyten« ganz gut hätte angewendet werden können. Aber ebenso regelmäfsig entsprachen die mit Glasröhrchen darnach der Bauchhöhle entnommenen Flüssigkeitsproben niemals den Anforderungen, die Metschnikoff gestellt hat: es war nie eine dicke, eitrige Flüssigkeit vorhanden. Höchstwahrscheinlich handelt es sich dabei noch um einen unbedeutenden, aber schwer zu findenden Kunstgriff des Pasteurschen Instituts, der nicht leicht nachzuahmen ist.

Nur ein Ergebnis hatten diese Versuche, das trotz aller Mifserfolge immer zur Anstellung neuer ermutigte. Je kleiner nämlich die Mengen des Immunserums waren, desto mehr trat das Pfeiffersche Phänomen zurück und die Phagozytose war stärker. Das trat besonders hervor, wenn das Serum 24 Stunden vorher unter die Haut eingeführt worden war. Bei zu kleiner Serumzufuhr traten dann Befunde, wie der auf S. 278 mit den Meerschweinchen 86 und 87 beschriebene, auf.

Übrigens entsprachen die angestellten Versuche noch in einem anderen Punkte den Anforderungen nicht, die Metschnikoff stellte. Bekanntlich betrachtet er neben der Ansammlung von Leukozyten in der Bauchhöhle noch deren gesteigerte Arbeitsfähigkeit und Widerstandskraft gegen Schädigungen als wesentliche Bedingungen des Gelingens. Ein Ausdruck dieser Schädigung ist aber das Zusammenballen der ursprünglich einzeln liegenden Zellen zu Klumpen und dieses trat fast unmittelbar nach der Bazilleneinspritzung immer im gröfsten Mafsstabe auf.

Erst eine umständlichere Versuchsanordnung, die aus den angeführten Beispielen zu ersehen ist, ergab die Bestätigung des Metschnikoffschen Versuches in allen wesentlichen Punkten.

Tabelle XXIV.

Der Versuch an den Meerschweinchen 24 und 25 ist ausführlich mitgeteilt unter Zusammenstellung der Beobachtungsergebnisse gefärbter und ungefärbter Präparate. Die andern Versuche werden nur auszugsweise angeführt.

Meerschweinchen 24.	Meerschweinchen 25
am ersten Tage 5 ccm Aleuronat ip. am nächsten Tage 5 ccm Aleuronat ip. und gleichzeitig 0,01 ccm Serum »Edith« unter die Haut der linken Achsel. Am dritten Tage 1 Öse Cholera ip.	erhält ohne jede Aleuronateinspritzung gleichzeitig mit Nr. 24 Serum sk. und am nächsten Tage die gleiche Menge Cholera ip.
Sofortige Entnahme liefert ein trübes, dickliches, beim Ausblasen der Kapillare fadenziehendes Exsudat mit massenhaften kleinen und grofsen polynukleären Zellen. Einzelne derselben enthalten bereits einen normal aussehenden Vibrio. Zwei Makrophagen haben kleine polynukleäre gefressen. Freie Vibrionen in grofser Zahl, normal, aber bewegungslos.	Sofortige Entnahme liefert ein leicht rotes Exsudat mit ziemlich viel roten, äufserst wenigen kleinen, polynukleären, weifsen Blutkörperchen und eine grofse Zahl bewegungsloser Vibrionen.
Nach 5 Min. ist das Exsudat dick und trüb wie früher, enthält aber viele kleine Flocken, die aus Klumpen von Leukozyten bestehen, wobei aber die randständigen Zellen noch reichlich Pseudopodien führen. Gefärbte Präparate zeigen vorwiegend polynukleäre Leukozyten, kleine überwiegend, viele dicht erfüllt mit Vibrionen, die zum Teil bereits deutlich gequollen, zum Teil bereits in Körnchen verwandelt sind. Freie Vibrionen sehr zahlreich, auch mit Fuchsin durchaus normal.	Nach 5 Min.: Im wesentlichen wie vorher, Quellungserscheinungen an den Vibrionen beginnen.
Nach 10 Min. ist das Exsudat immer noch dick, aber durch grobe Flockenbildung scheinbar etwas geklärt. Der gröfste Teil der Leukozyten ist verklumpt, doch scheint das die Phagozytose nicht gehindert zu haben, da die meisten Zellen gefressen haben und der Mehrzahl nach typische Granula enthalten. Freie Vibrionen, wie vorher, mit wenig Quellung und ganz spärlicher Körnchenbildung.	Nach 10 Min.: Im ungefärbten Präparat überhaupt keine, im gefärbten ganz einzelne Lymphozyten gefunden. Etwa $^1/_3$ der vorhandenen Vibrionen in Granula verwandelt, vom Rest der gröfste Teil in Quellung.

Nach 15 Min.: Dicklich wie früher, ist das Exsudat durch Bildung grofser Leukozytenklumpen weiter geklärt worden; dadurch scheint auch die Verminderung der Leukozytose bedingt zu sein. Fast alle Leukozyten polynuklear und meist dicht mit Körnchen erfüllt. Freie Vibrionen gegen früher nicht vermindert, unbeweglich aber normal, nur selten mit Quellung oder Körnchenbildung.

Nach 20 Min.: Wesentlich wie vorher.

Nach 25 Min.: Noch viele Klumpen, daneben aber wieder reichliche freie Leukozyten mit Pseudopodien. Stärkste Phagozyten anhaltend, aber dennoch die Zahl der freien Vibrionen, die der ungeheuren Mehrzahl nach, gefärbt wie ungefärbt, normal aussehen, kaum vermindert.

Nach 35 Min. ist das Exsudat wieder dicht trüb, enthält auch grofse Leukozytenhaufen, aber wieder sehr viele freie Zellen, fast alle überfüllt mit Körnchen. Die Zahl freier Vibrionen ist vermindert, die gröfste Mehrzahl sieht normal aus, doch sind Quellungen und Körnchen häufiger zu finden als bisher.

Nach 43 Min.: Zellverhältnisse und Phagozytose wesentlich wie vorher. Freie Vibrionen weiter vermindert, ohne dafs die Körnchenbildung stärker geworden wäre.

Nach 50 Min.: Die freien Leukozyten überwiegen nunmehr weitaus die verklumpten. Vibrionen sind auch im gefärbten Präparate nur einzeln, noch seltener sind sichere freie Granula. Die Körnchen in vielen Leukozyten sind kleiner geworden und machen den Eindruck von Auflösung. Überhaupt ist die Phagozytose schwächer, d. h. die Zahl der Leukozyten ohne Phagozytose ist jetzt gröfser wie vorher.

Nach 60 Min.: Reiner Eiter, die Mehrzahl der Zellen ist bereits von

Nach 20 Min.: Im Exsudate wurden überhaupt keine Leukozyten gefunden. Sehr wenige noch erkennbare Vibrionen, fast nur Granula, oft in Häufchen.

Nach 30 Min.: Noch immer keine Leukozyten. Nur Granula, aber auch diese an Zahl gegen früher vermindert.

Körnchen frei, die andern enthalten noch solche. Mit Sicherheit konnten weder freie Vibrionen noch Granula mehr gefunden werden.

Meerschweinchen 28
genau wie Nr. 24 behandelt.

Das Exsudat war zu Beginn sehr dick, aber nicht allzu trüb. Leukozyten, und zwar größtenteils kleine und (weniger) große polynukleäre enthielt es in großer Menge. Nach 5 Min. waren zahlreiche kleine, nach 10 Min. große Klumpen von Leukozyten gebildet, doch blieben daneben während der ganzen Zeit viele Zellen frei. Phagozytose wurde in geringem Grade bereits nach 5 Min. bemerkt, nahm nach 10 Min. etwas zu, war nach 20 Min. sehr stark, aber nicht allgemein und betraf fast nur Granula. Nach 35 Min. erreichte sie ihren Höhepunkt, um zur Zeit des Schlusses der Beobachtung, nach 40 Min., wieder schwächer zu werden. Die Zahl der Vibrionen, die dauernd unbeweglich blieben, sank nach 20 Min. stark ab. Sichere Granulabildung außerhalb der Zellen wurde nach 15 Min. deutlich, aber nur an zwei Stellen gesehen, nach 20 Min. fand sich nichts davon, nach 25 Min. wurde sie wieder vereinzelt beobachtet, ebenso nach 30 Min. Nach 35 Min. fehlte sie. Am Schlusse fanden sich im gefärbten Präparate noch vereinzelte Vibrionen, aber keine sicheren Granula.

Meerschweinchen 29
genau wie Nr. 25 behandelt.

Nach 10 Min. reichliche Quellungserscheinungen und Körnchenbildung, nach 20 Min. ist der größte Teil der Vibrionen entartet, nach 40 Min., wo eine Darmverletzung die weitere Beobachtung verhindert, sind fast ausschließlich Granula in bereits verminderter Zahl vorhanden. Leukozyten fanden sich während der ganzen Beobachtungszeit äußerst spärlich vor.

Meerschweinchen 33.
Genau wie Nr. 24 und 28 behandelt, nur daß das Serum am zweiten Tage ip. gegeben wurde.

Das sofort entnommene Exsudat war trüb, aber nicht dick und enthielt anscheinend auch weniger Leukozyten als die bisherigen Tiere. Flockenbildung begann bereits nach 5 Min. und war

Meerschweinchen 34
genau wie 25 und 29, aber mit ip. Serumeinspritzung.

Nach 10 Min. sind nur noch Granula vorhanden, deren Zahl sich rasch vermindert.

nach 10 Min. so stark, dafs das Exsudat fast geklärt war. Nach 25 Min. wurde das Exsudat dick und neben den Flocken durch freie Zellen trüb. Phagozytose war schon nach 5 Min. sehr stark und schon um diese Zeit fanden sich Granula in den Zellen, nach 10 Min. bereits war sie allgemein und betraf zum teil Körnchen. Sie blieb so bis 35 Min., um dann abzunehmen. Die anfangs sehr zahlreichen freien Vibrionen waren bereits nach 10 Min. vermindert. Um diese Zeit fand sich etwa $^4/_5$ normal aussehende Vibrionen und $^1/_5$ gequollene und Granula. Nach 15, 20 und 25 Min. fand eine weitere Verminderung der freien Vibrionen statt, ohne dafs die Granula zunahmen. Nach 35 und 40 Min. fanden sich keine Vibrionen mehr, aber auch nur äufserst spärliche Granula. Es konnte gegenüber der Masse der in Zellen aufgenommenen und dort zerfallenen Vibrionen kein Zweifel darüber bestehen, wohin die ungeheure Mehrzahl derselben gekommen war.

Meerschweinchen 222.

Am ersten Tage 5 ccm Aleuronat ip.
Am zweiten Tage 0,005 ccm Serum Pfeiffer unter die Haut der linken Leiste und 3 ccm Aleuronat ip.
Am dritten Tage 1 Öse Cholera ip.

Das Exsudat des Tieres ist weifslicher dicker Eiter mit einer Unzahl von Leukozyten, unter denen kleine, polynukleäre überwiegen, dann kommen grofse polynukleäre, dann Makrophagen. Nach 5 und 10 Min. tritt starke Haufenbildung der Leukozyten ein, die aber immer nur die Minderzahl der Zellen in sich begreift. Am Schlusse der Beobachtung, nach 70 Min. ist in der Bauchhöhle dicker Eiter. Schon bei der ersten, der Choleraeinspritzung unmittelbar folgenden Entnahme fand sich hie und da ein einzelner Vibrio in

Meerschweinchen 223.

Wie 222, aber ohne Aleuronateinspritzungen.

Bereits nach 10 Min. finden sich fast nur Körnchen.

Das Tier war abends deutlich krank und magerte in der Folge stark ab.

einem Leukozyten. Die Phagozytose erreicht schon nach 10 und 20 Min. die stärksten bisher beobachteten Grade, betrifft dann fast nur Granula. Nach 45 Min. beginnt sie bereits nachzulassen. Die zahlreich vorhandenen freien Vibrionen zeigten nach 10 Min. an einzelnen Stellen Quellung, nach 20 Min. waren sie bereits in Abnahme begriffen, wobei nur an zwei Stellen des hängenden Tropfens sich kleine Häufchen von Granula fanden. Nach 30 Min. weitere Abnahme, im ungefärbten Präparate nur normale, kaum gequollene Vibrionen, im gefärbten daneben einzelne Granula. Nach 45 Min. waren Vibrionen wie Granula äufserst spärlich, nach 70 Min. fanden sich weder ein Vibrio noch ein Körnchen, aber auch von Phagozyt. war nicht mehr viel zu sehen.

Die erwähnten Versuche bilden, allerdings auf dem Umwege, einer recht verwickelten und in Einzelheiten abweichenden Versuchsanordnung, eine volle Bestätigung des Metschnikoffschen Versuches. Zwar fehlte der Körnchenzerfall aufserhalb der Zellen nie vollständig, aber er blieb fast stets aufserordentlich gering. Nur bei Meerschweinchen 33 war er etwas stärker, aber noch immer nicht hinreichend, um das Verschwinden der Vibrionen zu erklären; es ist bezeichnend, dafs gerade bei diesem Tiere auch der Zellreichtum des Exsudates ein geringerer war. Das ganze Bild war beherrscht von der Phagozytose, und es ist erstaunlich, wie rasch dieselbe einsetzen und welch hohe Grade sie erreichen kann. Es kann gar keinem Zweifel unterliegen, dafs sie es ist, welche die Bauchhöhle von den Vibrionen, mindestens der Hauptsache nach befreit, was noch durch einen Blick auf das Versuchsergebnis der Meerschweinchen 86 und 87 bestärkt wird (S. 287). Auf Einzelheiten, die sich aus den mitgeteilten Beobachtungen vielleicht erschliefsen lassen, soll hier ohne eigens angestellte Versuche nicht eingegangen werden; es würde dazu namentlich die Auflösung der Vibrionengranula in den Zellen, sowie der sehr wahrscheinliche Wechsel der Leukokzyten in der Bauchhöhle, das

Verschwinden der Phagozyten und das rasche Auftreten frischer Zellen gehören. Nur auf einen Punkt sei noch hingewiesen, dafs nämlich die Häufigkeit der Entartungserscheinungeu von Vibrionen aufserhalb von Leukozyten hier trotz des Immunserums viel geringer war, als man sie bei normalen, nicht immunisierten Meerschweinchen, in Übereinstimmung mit Radzievskys Versuchen beobachten kann (ausgenommen Nr. 33).

Die Bedeutung und Beweiskraft des Metschnikoffschen Versuches ist bereits oben gewürdigt worden, es genügt darauf zu verweisen. Es entsteht aber die Frage, wie das Ausbleiben der Körnchenbildung zu erklären wäre. Es soll nicht bezweifelt werden, dafs Metschnikoff mit seiner ebenfalls bereits erwähnten Erklärung im grofsen das Richtige trifft. Aber abgesehen davon, dafs eine gewisse Schädigung der Leukozyten, die sich in Klumpenbildung offenbarte, niemals ausblieb, so erklärt Metschnikoff nur einen Teil der Erscheinung, nämlich die Möglichkeit einer starken und ausgiebigen Phagozytose. Unerklärt bleibt der andere, der sich in die Frage zusammenfassen läfst: warum bleibt die Auflösung der Vibrionen in der Flüssigkeit aus, obwohl Zeit dazu genug vorhanden wäre, ehe noch alle Vibrionen in Zellen aufgenommen sind?

Es dürfte sich wohl um ähnliche Verhältnisse handeln, wie sie bereits zur Erklärung des Ausbleibens oder der Verzögerung des Pfeifferschen Phänomens unter der Haut erwähnt wurden. Die Meerschweinchenbauchhöhle ist einem Reagensglase zu vergleichen und die günstigen Bedingungen, die sie, wie ein solches, für die Bakteriolyse ohuedies bietet, werden noch besser, sobald durch Bakterieneinspritzung Leukozyten ferngehalten werden. Sammeln sich lebende Zellen in grofser Zahl an, so ist aus dem Reagensglase ein Organ geworden, und die Bakteriolyse bleibt hier ebenso aus, wie etwa in der Niere, oder in einer Serumprobe, der man aufserhalb des tierischen Körpers Leber oder Milzzellen zugesetzt hat. Nun ist aber stets eine gewisse Menge von Zellen notwendig, die erst imstande ist, eine gewisse Serummenge unwirksam zu machen. Je mehr also Leukozyten und je weniger Flüssigkeit sich in der Bauchhöhle angesammelt haben,

desto weniger wird die Möglichkeit einer Bakteriolyse vorhanden sein, während selbst viele Leukozyten, die sich aber auf ein gröfseres Mafs von Flüssigkeit verteilen, die Vibrionenauflösung nur wenig werden hindern können. Dadurch erklärt sich nicht nur der Widerspruch, der sich gegen den Metschnikoffschen Versuch geltend gemacht hat, sondern auch die Wichtigkeit der Forderung Metschnikoffs nach dicken, eitrigen Exsudaten.

Nur in einem, aber sehr wesentlichen Punkte ist der Metschnikoffsche Versuch mit den Organversuchen innerhalb und teilweise auch aufserhalb des Körpers nicht zu vergleichen. Die Zellen, welche durch ihre Ansammlung die Bauchhöhle zu einem Organe machen, vermögen zwar, wie etwa die Nierenzellen, die Bakteriolyse zu hindern, aber sie sind gleichzeitig selbst zur Bakterienvernichtung durch Phagozytose befähigt. Deshalb bleibt das Endergebnis des Pfeifferschen und des Metschnikoffschen Versuche zwar das gleiche: Absterben der Bakterien und Überleben des Tieres, aber der Weg, auf dem es erreicht wird, ist ein verschiedener. Wie der wichtige Versuch mit den Meerschweinchen 86 und 87 zeigt, ist der Weg des Metschnikoffschen Versuches der sicherere.

Es lag nahe genug, die Berechtigung der vorstehenden Folgerungen noch auf dem Wege zu prüfen, dafs die Bauchhöhle nicht durch Leukozytenansammlung, sondern durch Einspritzung anderer Zellen zum Organ gemacht wird, um damit die Bakteriolyse zu verhindern. Die Versuche gelangen bisher bei Cholera nicht, wohl deshalb, weil bei der grofsen Empfindlichkeit des Vibrio gar nicht genug Zellen angewendet werden konnten, bei Typhus verliefen sie sofort der Erwartung entsprechend.

Tabelle XXV.

0,75 g Leber eines frisch getöteten Meerschw. werden so schnell als möglich durch Draht geprefst, in 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit Typhuskultur und Serum »Edgar« versetzt und verwendet. Tiere von 350 g.

Meerschweinchen 176	Meerschweinchen 177.
erhält 0,05 ccm Serum »Edgar« + $^1/_8$ Öse virulenter Typhusagarkultur in 3 ccm NaCl-Lösung ip.	Erhält 0,05 ccm Serum »Edgar« + $^1/_8$ Öse virul. Typhuskult. + 0,75 g Meerschweinchenleber in 3 ccm NaCl-Lösung ip. Während der ersten Zeit ist die Beobachtung im ungefärbten Präparate wegen der zahlreichen Leberzellen, Blutkörperchen und Trümmer fast unmög-

Nach 3 Std. finden sich in der Bauchhöhle bereits viele Lenkozyten, aber weder Bazillen noch Körnchen.

Nach 10 Std. enthält die Bauchhöhle reinen, bazillen- nnd körnchenfreien Eiter.

Das Tier lebt, ohne je Krankheit gezeigt zn haben.

lich, gefärbt zeigen sich immer Bazillen in ansehnlicher Zahl, aber ohne Vermehrung.

Nach 3 Std. ist der gröfste Teil der Leberzellen nnd anch viel Trümmer verschwunden. Bazillen spärlich, einzeln nnd unbeweglich.

Nach 7 Std. sind viele Leukozyten vorhanden, die stark gekörnt sind (offenbar mit Geweberesten beladen). Bazillen ziemlich zahlreich, oft in bis achtgliedrigen Ketten, die vielfach Neigung zeigen, sich parallel aneinand. zn lagern.

Nach 10 Std. ist das Tier dentlich krank; Leukozyten in der Banchhöhle sehr zahlreich, mit ohne weiteres eichtbaren Bazillen und Körnchenphagozytose. Gefärbt zeigt sich Phagozytose, die alle Grade vom wohlerhaltenen Bazillus bis zum ausgeprägten Körnchen nmfafst, in grofsem Mafsstabe. Freie Bazillen in mäfsiger Zahl, vielfach mit Kettenbildung, daneben viele gequollene Stäbchen nnd sehr viele Typhusgranula.

Das Tier stirbt in der Nacht. In der Banchhöhle wenige Tropfen eines bräunlich gefärbten Eiters, dessen kleine und grofse polynnkleäre Leukozyten und Makrophagen fast durchans stärkste Grannlaphagozytose zeigen. Zwischenliegend viele Bazillen, die aber doch nicht so zahlreich sind, wie bei einer gewöhnlichen Impfnng, ferner mehr weniger gequollene Stäbchen und viele Granula. Sehr zahlreiche Auflagerungen, von denen namentlich die Leber betroffen ist, die ganz in bräunliche Eitermassen eingehüllt erscheint. Sie bestehen fast nur aus grofsen polynukleären Zellen mit stärkster Grannlaphagozytose; zwischenliegend keine erkennbare Bazillen, sondern nur Granula. Erhaltene Leberzellen sind in der Bauchhöhle nirgends mehr zn finden. Die bräunliche Färbung scheint mehr von Blnt als von Leberzellen herzurühren.

Natürlich liegt solchen Versuchen gegenüber der Einwand einer »Komplementbindung« durch die Leberzellen (Wilde, v. Dungern, Hoke) nahe. Aber es mufs zunächst noch einmal betont werden, dafs es gar nicht so sehr darauf ankommt, wie die Bakteriolyse, sondern dafs sie behindert wird. Dann aber spricht die geringe Vermehrung der Typhusbazillen in den ersten Stunden, die unzweifelhaft auch aufserhalb der Zellen zu findende Quellung und Körnchenbildung, schliefslich die lange Zeit, die bis zur stärkeren Vermehrung verflofs, nicht für ein gänzliches Fehlen von Komplementen.

Der dritte Beweis; die Besonderheit tierischer Bazillen.

Die hier zu besprechende Erscheinung betrifft nur den Typhusbazillus und mufs vorangestellt werden, weil ihre Kenntnisnahme für die Führung des zweiten Beweises erforderlich ist. Sie zeigt nicht so sehr die Mangelhaftigkeit des Pfeifferschen Versuches als solchen an, als vielmehr die Mangelhaftigkeit der Immunität, welche durch die Zufuhr bakteriolytischen Immunserums entsteht. Typhusbazillen nämlich, welche ohne Einschaltung einer Kultur auf künstlichen Nährböden unmittelbar einem an Typhus gestorbenen Meerschweinchen entnommen werden, sind dem Einflusse des bakteriolytischen Serums, wenn überhaupt, so nur im geringsten Grade zugänglich, und es gelingt nicht, normale Tiere vor ihnen, selbst mittels grofser Mengen von Immunserum, zu schützen.

Für die folgenden Versuche, die in kurzem Auszuge mitgeteilt werden, wurde folgende Versuchsanordnung eingehalten. Das Exsudat eines der Bauchhöhleneinspritzung erlegenen Typhusmeerschweinchens wurde mittels steriler Pipetten entnommen und zentrifugiert. Der Satz wurde mit auf 37° erwärmtem, destillierten Wasser zerschüttelt und durch Fliefspapier filtriert. Die trübe Flüssigkeit, aus der Leukozyten durch das Filter, rote Blutkörperchen durch Lösung entfernt waren, wurde sofort mit physiologischer NaCl-Lösung auf etwa 20 ccm in gröfseren Gläschen aufgefüllt, zentrifugiert, nochmals mit frischer NaCl-Lösung gewaschen,

und der Satz schliefslich in der gewählten Menge NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Das Zentrifugieren fand in einem kalten Raume statt, so dafs etwaige Vermehrung ausgeschlossen werden konnte. Die Gröfse der den Tieren einzuspritzenden Bakterienmenge wurde ungefähr durch Vergleich mit Aufschwemmungen von Kulturbazillen (nach Ösen berechnet) festgestellt. Jedenfalls wurde darauf geachtet, dafs die mit Kulturbazillen behandelten Kontrolltiere mehr Bazillen als die Versuchstieree erhalten mufsten. Die ersten beiden mitgeteilten Versuche sind noch ohne Kontrolltiere angestellt, da sie erst zur Entdeckung dieses merkwürdigen Verhaltens führten.

Tabelle XXVI.

Exsudat eines nach Impfung mit 2 Ösen Typhne erlegenen Meerschweinchens η. Die in der oben angeführten Weise gewonnenen Exsudatbazillen wurden in 2 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und jedes der vier Meerschweinchen (350—380 g) erhielt davon 0,25 ccm, die teils mit NaCl-Lösung, teils mit der durch Zentrifugieren geklärten Exsudatflüssigkeit zusammen eingespritzt wurden.

Nr.	Serum	Bazillen	Ergebnie
58	0,075 ccm Serum »Edgar« ip.	Nach 1/2 Std. 1,3 ccm zentrifugiertes Exsudat von Meerschw. + 0,25 ccm Bazillenaufschwemmung	Nach 1 Std. fast keine Zellen, massenhaft normale bewegliche Bazillen. Nach 2 Std. wimmelnd von Bazillen, an denen sich nichts von Körnchenbildung sehen läfst. Nach 5 Std. ebenso, sehr wenig Leukozyten. Das Tier ist bereits krank. Stirbt nachts. Ca. 4 ccm dicht trüben, zellarmen, ungemein bazillenreichen Exsudates. Ziemlich viele, fibrinöse Auflagerung auf Leber, Netz und Milz.
59	Wie 58	Wie 58 aber mit NaCl-Lösung	Die Bazillenvermehrung deutlich langsamer als bei Nr. 58. Sonst im wesentlichen gleicher Befund. Stirbt nachts. Befund entsprechend dem von 58.
60	—	Wie 58	Sofort einsetzende Bazillenvermehrung. Stirbt nach 9 Std. Befund schwerer Infektion.
61	—	Wie 59	Wie 60. Tod nach 9 Std. Befund schwerer Infektion.

Tabelle XXVII.

Exsudat von Meerschweinchen 61. Anordnung im wesentlichen wie in der vorigen Tabelle. Der Bazillensatz wird in 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und davon je 0,25 ccm zur Infektion verwendet. Tiere von 350—400 g.

Nr.	Serum	Bazillen	Ergebnis
62	0,075 ccm Serum »Edgar« ip.	Nach 1/2 Std. 1,5 zentrif. Exsudatflüssigkeit von Nr. 61 + 0,25 ccm Bazillenaufschwemmung	Sofort einsetzende Vermehrung. Tod in der Nacht.
63	Wie 62	Wie 62 mit Na Cl-Lösung	Sofort einsetzende Vermehrung, sehr undeutliche Entartungserscheinungen an wenigen Bazillen. Tod in der Nacht.
64	—	Wie 62	Sofort einsetzende Vermehrung. Tod in der Nacht.
65	—	Wie 63	Sofort einsetzende Vermehrung. Tod am Abende.

Tabelle XXVIII.

Das Exsudat von Nr. 65 wurde sofort nach dem Tode zentrifugiert, der Satz über Nacht auf Eis gehalten und am Morgen des nächsten Tages in gewöhnlicher Weise gereinigt. Der 12. Teil des schliefslich bleibenden Satzes wird zur Infektion verwendet. Damit die Trübung ungefähr gleich stark werde, mufs 1 Öse Kulturbazillen in der gleichen Menge Na Cl-Lösung aufgeschwemmt werden. Es wird aber die doppelte Menge der aus der Bauchhöhle von Nr. 65 stammenden, über Nacht gewachsenen Kultur genommen, so dafs auf jedes Tier 2/3 Ösen Kulturbazillen entfällt.

Nr.	Serum	Bazillen	Ergebnis
66	0,075 ccm Serum »Edgar« ip.	Nach 1/2 Std. 1,5 ccm zentrifugierter Exsudatflüssigkeit von Nr. 65 + tierischer Bazillen	Es zeigten sich Granula nach 1 und 2 Std., aber nur spärliche Typhusbazillen, welche sich schon nach 1 Std. nicht mehr vorfanden. Das Exsudat wurde nach 5 Std. bei Kranksein des Tieres eitrig. Das Tier erholte sich, doch bewiesen schwere Infiltrate der Haut mit Typhusbazillen, dafs ein unbestimmbarer Teil der Flüssigkeit unter die Haut und nicht in die Bauchhöhle gekommen war. Das Tier überlebte schliefslich.
67	Wie 66	Wie 66 aber mit Kulturbazillen	Nach 1, 2 und 3 Std. waren immer reichlich Bazillen, aber ohne hervortretende Vermehrung zu finden, dabei vielfach Quellung und Granula. Nach 6 Std. waren reichlich Leukozyten aufgetreten, die Granulabildung hatte noch zugenommen. Dann begann Vermehrung der Bazillen und das Tier war krank. Tod nach 25 Std. Im Peritoneum wieder fast nur Quellung und Granula. Aggressivwirkung.

Nr.	Serum	Bazillen	Ergebnis
68	Wie 66	Wie 66 aber mit NaCl-Lösung	Sofort einsetzende Vermehrung. Tod in der Nacht.
69	Wie 66	Wie 67 aber mit NaCl-Lösung	Nach 1 Std. Granula, nach 2 Std. keine Bazillen mehr, nach 6 Std. in der Bauchhöhle reiner, bazillenfreier Eiter. Das Tier lebte, ohne je Krankheit gezeigt zu haben.
70	—	Wie 68	Fortschreitende Vermehrung. Tod in der Nacht.
71	—	Wie 69	Sofortige Vermehrung. Tod in der Nacht.

Tabelle XXIX.

Satz des vereinten Exsudates von vier Typhustieren (94—97). Kultur aus der Bauchhöhle eines dieser Tiere (Nr. 95), 12 Std. alt. Die Aufschwemmung der Kulturbazillen enthielt je 1 Öse, die der tierischen Bazillen war weit weniger trüb Tiere von 380—460 g.

Nr.	Serum	Bazillen	Ergebnis
98	0,25 ccm Serum »Edgar« ip.	nach $^1/_2$ Std. 2,5 ccm NaCl-Lösung mit Tierbazillen	Sofortige Vermehrung. Tod in der Nacht. Im toten Tier sehr wenig Exsudat, darin reichlichst Bazillen, aber auch Granula.
101	0,15 ccm Serum »Edgar« ip.	nach $^1/_2$ Std. wie 98	Sofortige Vermehrung. Tod nach 22 Std. Schwere Infektion.
103	0,15 ccm Serum »Edgar« ip.	nach $^1/_2$ Std. 2,5 ccm NaCl-Lösung mit Kulturbazillen	Keine Vermehrung. Nach 5 Std. im eitrigen Exsudat keine Bazillen mehr. Lebt. ✓

Tabelle XXX.

Satz des Exsudates eines Typhustieres 113. Die Trübung der schließlichen Aufschwemmung entspricht der von 1 Öse Kulturbazillen, so daß jedes Tier ca. $^1/_2$ Öse erhält. Das Kontrolltier erhielt die doppelte Menge der aus der Bauchhöhle von Nr. 113 stammenden, 12 Std. alten Kultur. Tiere von 450 g.

Nr.	Serum + Bazillen	Ergebnis
114	0,15 ccm Serum »Edgar« + $^1/_2$ Öse Tierbazillen in 1 ccm NaCl ip.	Sofortige Vermehrung. Tod in der Nacht.
115	0,075 ccm Serum »Edgar« + $^1/_2$ Öse bazillen in 1 ccm NaCl ip.	Sofortige Vermehrung. Tod in der Nacht.
116	0,075 ccm Serum »Edgar« + $^2/_2$ Öse Kulturbazillen ip.	Lebt ohne Krankheit.

Tabelle XXXI.

Die tierischen Bazillen stammen aus dem Exsudate des Serumtieres 151. Die Kultur entstammt der Bauchhöhle des gleichen Tieres. Die für die Tiere Nr. 153—155 verwendete Bazillenmenge entspricht 1/2 Öse, Tiere von 460—530 g.

Nr.	Serum	Bazillen	Ergebnis
151	0,075 ccm Serum »Edg.« ip.	nach 1/4 Std. ca. 1/2 Öse tierische Bazillen aus dem Exsudate eines Typhustieres 145	Fortschreitende Vermehrung. Tod in der Nacht.
153	0,1 ccm Serum »Edg.« ip.	gleich darnach 1/2 Öse Bazillen aus Nr. 151 in 2 ccm NaCl-Lösung	Sofortige Vermehrung. Tod in der Nacht.
154	Wie 153	gleich darauf 1/2 Öse Kulturbazillen in 2 ccm NaCl-Lösung	Nie krank gewesen. Lebt.
155	Wie 153	gleich darauf 1/2 Öse Kulturbazillen in 2 ccm zentrifugierter Exsudatflüssigkeit von Nr. 151	Rasche Vermehrung mit häufiger Körnchenbildung. Tod in der Nacht.

Bereits vor mehreren Jahren konnte in anderer Hinsicht eine Verschiedenheit im Verhalten von tierischen und Kulturbazillen beim Typhus nachgewiesen werden: erstere sind der agglutinierenden Wirkung eines Immunserums gar nicht oder doch viel weniger zugänglich als die letzteren. Bereits damals wurde nach diesem Befunde eine tiefgehendere Verschiedenheit zwischen beiden vermutet und in der Virulenz und der immunisierenden Fähigkeit der tierischen Bazillen zu erweisen versucht; die Ergebnisse waren in ersterer Hinsicht vollständig zweifelhaft, in letzterer nur teilweise erfolgreich. Erst jetzt ergibt sich, dafs die Besonderheit der tierischen Bazillen nicht nur der agglutinierenden, sondern auch der bakteriziden Seite der Immunserumwirkung gegenüber zum Ausdruck kommt und die Übereinstimmung ist eine weitgehende. Die Nichtagglutinierbarkeit der Exsudatbakterien verschwindet schon bei der ersten Züchtung, der Widerstand gegen die Bakteriolyse (siehe Tabelle XXIX, XXX, XXXI) ebenfalls. Die Nichtagglutinierbarkeit findet sich nur bei tierischen Typhusbazillen, nicht bei Choleravibrionen, das Gleiche trifft für das Ausbleiben der Bakterizidie zu.

Tabelle XXXII.

Vibrionen aus dem Exsudate eines mit Cholera in die Bauchhöhle geimpften Meerschweinchens, gewonnen und gewaschen wie in den entsprechenden Typhusversuchen. Der verhältnismäfsig geringe, schliefslich bleibende Vibrionensatz wurde in 15 ccm physiologischer Na Cl-Lösung aufgeschwemmt und davon 0,25 ccm verwendet. Tiere von 200 g.

Nr	Serum	Bazillen	Ergebnis
84	0,001 ccm Serum »Pfeiffer« ip.	nach 1/2 Std. 0,25 ccm Bazillenaufschwemmg.	Nach 1 Std. ausschliefslich Körnchen. Lebt, ohne je Krankheit gezeigt zu haben.
85	—	Wie Nr. 84	Fortschreitende Vermehrung der Vibrionen. Tod in der Nacht.

Andere, dasselbe beweisende Versuche s. später (Tab. XLII u. XLIII).

Abgesehen aber von der Verschiedenheit tierischer und gezüchteter Bazillen, dürfte hier der Ort sein, auf eine Übereinstimmung des Verhaltens der Bakterien den verschiedenen Arten der Immunserumwirkung gegenüber hinzuweisen. Bezüglich der Agglutination hat, von wenigen sehr schüchterneu und seither nicht vermehrten Bemerkungen abgesehen, noch niemand eine irgend erhebliche Haufenbildung im Tierkörper feststellen können, obzwar bei Anstellung der unzähligen Pfeifferschen Versuche genug Gelegenheit dazu gegeben gewesen wäre. Für die Bakteriolyse konnte oben gezeigt werden, dafs sie besonderer Versuchsanordnungen und sehr empfindlicher Lebewesen, wie es die Choleravibrionen sind, bedarf, um im Tierkörper nachweisbar zu sein. Und für die dritte Wirkung des Immunserums, die präzipitierende, kann man auch ohne besondere Versuche ruhig aussagen, dafs sie im Tiere auch nicht annähernd so wie im Glase erfolgen kanu; wie wäre es sonst möglich, einem vorbehandelten Tiere z. B. Typhusbouillonfiltrat in die Blutbahn zu bringen, ohne dafs Kreislaufstörungen eintreten?

Dazu kommt noch ein erst in jüngster Zeit entdeckter Umstand. Für die Bakteriolyse trifft es sich zufälligerweise so, dafs die beste Temperatur für Bakterien auch die Körpertemperatur ist und es sehr schwer ist, bei einer höheren zu arbeiten. Gleichwohl hat bereits Buchner[1]) bei 42°, also einem Wärmegrade,

1) Buchner, Dieses Archiv, Bd. 17, S. 115; daselbst Literatur.

den das Säugetier nur ausnahmsweise erreicht, eine energische, sogar sporentötende Serumwirkung festgestellt. Für die Agglutination aber hat Weil[1]) nachgewiesen, dafs sie weitaus besser, schneller und vollständiger als bei 37° bei 50—55° erfolgt, Temperaturen also, bei denen das meiste Leben stille steht oder geschädigt wird. Detre und Sellei[2]), welche Weils Arbeit noch nicht gekannt zu haben scheinen, haben auf anderen Gebieten Ähnliches gefunden und für Präzipitation gilt vermutlich das Gleiche.

Und trotzdem, wenn man die gewaltig angeschwollene Zahl der Arbeiten über Immunsera (antitoxische natürlich ausgenommen) überblickt, findet man beinahe nur Reagensglasversuche, oft geistreicher und mühevollster Art. Das Tier dient fast nur noch als Serumlieferant, und wenn sonst von ihm noch etwas benutzt wird, so ist es so gut wie immer die Bauchhöhle mit ihren ganz besonderen Verhältnissen. Es soll keinen Augenblick die Bedeutung der auf dem Wege des Glasversuches erhaltenen Ergebnisse verkannt werden, aber das, worum es sich in letzter Linie handelt, ist doch die Frage nach dem Wesen der Immunität. Hofft man aber wirklich, dieses Wesen durch Versuche aufserhalb des Tierkörpers und rein willkürlicher Übertragung ihrer Deutungen auf denselben erkennen zu können?

Als Grund der Nichtagglutinierbarkeit tierischer Typhusbazillen wurde früher ihre »Besetzung mit der haptophoren Gruppe des Agglutinins« angenommen. Diese Deutung schien damals ausreichend und möglich, und es wurde auch versucht, sie durch getrennte Entstehung der haptophoren und toxophoren Agglutiningruppe im Tiere selbst zu erweisen, ein Weg, der freilich mühsamer war als der übliche der Glasversuche, und der seither nicht mehr betreten wurde. Inzwischen haben sich die Anschauungen über das Agglutinin als Sonderkörper tiefgehend verändert. Nicht einmal so sehr durch die Erkenntnis ihrer Bedeutungslosigkeit für den Tierkörper als infolge mehrerer Veröffentlichungen der neueren Zeit. In der Tat haben die Versuche von Joos, Schöller, Kraus und Joachim eine der-

1) Weil, Zentralbl f. Bakteriol., I. Abt., Bd. 36, S. 677, Bd. 37, S. 426.
2) Wiener klin. Wochenschr., 1904, Nr. 45.

artige Verwicklung im »Bau des Agglutinins« enthüllt, dafs man, um einen solchen Körper noch denken zu können, nicht mehr wissenschaftliche Gestaltungskraft, sondern reine Phantasie in Anspruch nehmen müfste. Die Hämolysine sind übrigens von dieser Stufe nicht mehr sehr entfernt, und die Bakteriolysine wären wohl auch so weit, wenn ihr Studium nur etwas bequemer wäre; die Präzipitine schliefsen sich bereits den Agglutininen recht nahe an. Für die Agglutination hat nun weiter Weil nachgewiesen, dafs Gelatine als agglutinierender Körper einen ganz ähnlichen Bau haben müfste wie die Serumagglutinine, dafs mit diesen besetzte Bakterien durch Gelatine nicht mehr agglutiniert werden usw. Der Gelatine kann man aber wohl kaum mehr ein eigenes Agglutinin zuschreiben, das von »abgestofsenen Rezepturen« herrührt. Weil zieht den Schlufs, dafs man nicht mehr von Agglutininen als Stoffen, sondern nur von agglutinierenden Eigenschaften sprechen dürfe, die einer Flüssigkeit zukommen. Bei dem ähnlichen Bau und der ähnlichen Entstehungsgeschichte, die Präzipitine und Bakteriolysine mit den Agglutininen gemein haben sollen, wird dieser Schlufs sehr bald auch auf diese ausgedehnt werden müssen und in mehrfacher Hinsicht ist er bereits durch Baumgarten und seine Schüler und Fischer gezogen worden. Es ist zuzugeben, dafs die verhältnismäfsig einfachen Verhältnisse osmotischer Wirkungen, welche Baumgarten und Fischer einzig als Erklärungsgrund anführen konnten, nicht ausreichen; deswegen kann aber doch der physikalisch geschulte physiologische Chemiker die letzte Entscheidung über die Frage haben, warum eine Mischung von Kolloiden und Kristalloiden, wie sie im Serum vorliegt, haufen- und niederschlagbildende und lösende Eigenschaften besitzt. Für die Immunitätslehre gehört aber wenig Prophetenkunst dazu, vorherzusagen, dafs die gegenwärtige Zeit mit ihrer Annahme unendlich vieler und unendlich verwickelter Stoffe in kurzem als »Zeit der naiven Immunitätsforschung« bezeichnet werden wird, wobei das Wort »naiv« selbstverständlich keinerlei herabsetzende, aber ziemlich genau diejenige Bedeutung haben soll, die ihm in dem philosophischen Kunstausdrucke, naiver Realismus, zukommt.

Ein Versuch, die Widerstandskraft tierischer Typhusbazillen mit einer Besetzung derselben durch einen Immunkörper, der die Anlagerung des Immunserumambozeptors verhindern würde, zu erklären, ist natürlich ausgeschlossen. Denn ein solcher Immunkörper müfste ja wieder zu bakteriolytischen Wirkungen in Beziehung stehen, und da das Bakteriolysin ein unzweifelhafter Rezeptor dritter Ordnung sein soll, müfste doch das in der Bauchhöhlenflüssigkeit enthaltene Komplement eingreifen können; der Immunkörper des Serums wäre dann eigentlich gar nicht mehr nötig.

Es dürfte zurzeit am geratensten sein, die Verschiedenheit des Verhaltens tierischer und gezüchteter Bazillen vorläufig einfach festzustellen und Erklärungsversuche erst nach Untersuchung anderer Bakterien in dieser Hinsicht, die bereits begonnen ist, zu unternehmen. Inwieweit die Unangreifbarkeit der Bazillen des Tierkörpers mit an dem Überleben derselben in den Kaninchen- und Meerschweinchenorganen beteiligt sein kann, hat sich noch nicht feststellen lassen; Hauptursache derselben ist sie sicher nicht, wie eine blofse Betrachtung der früher mitgeteilten Versuche ohne weiteres zeigt.

Das Unzureichende der bakteriolytischen Immunität, die schon bei Verwendung tierischer Bazillen, also einer Art Kontagion versagt, tritt jedenfalls deutlich hervor.

Der zweite Beweis; das Agressin.

»Aggressin« ist der von Herrn Prof. Kruse selbst vorgeschlagene Ausdruck, der den bisher gebrauchten »Lysin« ersetzen soll. Denn obwohl das »Lysin« im Sinne Kruses unzweifelhaft vor den vielerlei Lysinen der letzten Jahre geschaffen war, schien es doch, in Übereinstimmung mit Herrn Prof. Kruse, geboten, einen neuen Namen zu wählen, da der alte sich in einer ganz anderen Bedeutung eingebürgert hat. Der Begriff des Aggressins ist bereits an anderer Stelle entwickelt worden, auf welche verwiesen werden kann.[1]) Um sich im Körper eines Tieres halten zu können, mufs ein Bazillus über die Möglichkeit verfügen, die

1) Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt., XXXVI, Nr. 2.

Schutzkräfte desselben zu überwinden; dazu dienen ihm eben seine aggressiven Eigenschaften, die man sich als Stoffe, Aggressine, vorstellen kann, welche er nach Art eines Toxius erzeugt. Ob das wirkliche Stoffe sind, die man in längerer oder kürzerer Zeit wird rein darstellen können, darüber soll das Wort Aggressin nichts Unwiderrufliches aussagen. Da die Schutzkräfte des Körpers wohl zum allergröfsten Teil in den Zellen, den farblosen Blutkörperchen voran, gelegen sind, so deckt sich der Begriff des Aggressins zum guten Teil mit einer ähnlichen, von Deutsch[1]) entwickelten Vorstellungsweise.[2])

Um die aggressiven Eigenschaften eines Krankheitserregers studieren zu können, um, kurz gesagt, seine Aggressine zu erhalten, genügt es, den Begriff derselben zu analysieren. Vermöge der Aggressine hält der Bazillus die Schutzkräfte fern und vermag sich daher, falls er dazu überhaupt die Fähigkeit hat, ungestört zu vermehren. Das mufs naturgemäfs in der Regel am Orte seines Eindringens besonders der Fall sein und wenn dabei z. B. pathologische Flüssigkeiten abgeschieden, Ödeme und Exsudate gebildet werden, so wird eine grofse Wahrscheinlichkeit vorliegen, hier die Aggressine zu finden. Tatsächlich lassen sich in der Ödemflüssigkeit milzbrandiger Tiere aggressive Eigenschaften nachweisen, die namentlich in bezug auf ihre immunisierende Fähigkeit, »Antiaggressine« zu bilden, studiert und zum Teil bereits mitgeteilt wurden. Sie sollen in den die Milzbranduntersuchungen abschliefsenden Arbeiten noch vollständig veröffentlicht werden.

Die Aggressine des Typhusbazillus und des Choleravibrio wurden im Exsudate der Bauchhöhle entsprechend geimpfter Meerschweinchen aufgesucht und gefunden.[3]) Wird ein solches durch sorgfältiges Zentrifugieren von allen Zellen und überdies von der gröfsten Mehrzahl der Bazillen, wenn notwendig auch durch Sterilisation von allen lebenden Keimen befreit, so erhält man eine klare, gelbliche, meist etwas fadenziehende Flüssigkeit,

1) Vgl. Deutsch-Feistmantel, Impfstoffe und Sera, 1903.

2) Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt., XXXVI, Nr. 2.

3) Dafs derartige Typhusexsudate mit Immunserum Niederschläge ergeben, wurde bereits früher beschrieben. Dieses Archiv, Bd. 42, S. 353.

welche zur Untersuchung der aggressiven Eigenschaften geeignet ist. Von diesen wurden vorwiegend folgende bisher bearbeitet:

1. Untertödliche Mengen von Typhusbazillen und Choleravibrionen werden bei gleichzeitiger Anwendung von Aggressinen tödlich.
2. Tödliche Mengen von Bazillen, die aber sonst nur den Todesbefund der verhältnismäfsig leichten Infektion (das III. Pfeiffersche Stadium) hervorrufen, erzeugen mit Hilfe von Aggressinen den der schweren (das IV. Pfeifferssche Stadium).
3. Mit Hilfe von Aggressinen gelingt es, die schützende Wirkung eines bakteriziden Immunserums in der Bauchhöhle von Meerschweinchen aufzuheben.
4. Es gelingt, durch Vorbehandlung mit Aggressinen Immunität zu erzeugen, die sich von der bakteriziden Immunität wesentlich unterscheidet.

Die ersterwähnten beiden Eigenschaften der Aggressine gehen aus dem Begriffe unmittelbar hervor. Sie müssen zuerst besprochen werden, ehe mittels der dritten Wirkungsweise des Aggressins der Beweis gegen die Bedeutung des Pfeifferschen Versuches geführt werden kann. Was den vierten Punkt betrifft, so können darüber vorläufig nur einzelne Andeutungen gemacht werden, da die Erzeugung von Aggressivimmunität im Gegensatz zu der sehr leichten Hervorbringung der bakteriolytischen, eine verhältnismäfsig schwierige und jedenfalls sehr zeitraubende Aufgabe ist, an deren Bewältigung übrigens bereits seit längerer Zeit in gröfserem Mafsstabe gearbeitet wird. Es besteht die gegründete Hoffnung, binnen wenigen Monaten die erzielten, nicht unwichtigen Ergebnisse darlegen zu können.

Die erste Eigenschaft der Aggressine spielte jedenfalls schon bei jenen älteren Versuchen von Hueppe, dann von Voges eine Rolle, bei denen es sich darum handelte, durch Übertragung eines Choleraexsudates von Tier zu Tier eine fortlaufende, ununterbrochene Infektionsreihe herzustellen. Denn mit den

Vibrionen wurde eine gewisse Menge aggressiver Flüssigkeit verimpft. Freilich kamen auch grofse Mengen von Vibrionen in das Tier hinein, die vollständig unnötig sind. Man kann Exsudat eines Choleratieres, z. B. 2 ccm, durch ausgiebiges Zentrifugieren dahin bringen, dafs es vollständig klar, wenn auch natürlich nicht keimfrei ist. Entsprechend aggressive Eigenschaften vorausgesetzt, genügen die verhältnismäfsig sehr spärlichen Vibrionen, die es noch enthält, zur Tötung eines Meerschweinchens.

Tabelle XXXIII.

Exsudat eines mit tierischen Vibrionen getöteten Meerschweinchens Nr. 47 (s. Tab. XLIII) wird klar zentrifugiert, über Nacht mit etwas Chloroform auf Eis gehalten und dieses dann verdunstet. Es wird teils allein, teils mit der untertödlichen Menge von Cholerakultur »Stamm«, teils mit dieser und Immunserum zusammen (s. später Tab. XLIV) verwendet. Tiere von 200 g.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tod	Bemerkungen
50	2 ccm ip.	—	Nach 27 Std	Eine Stunde nach der Einspritzung fanden sich keine Vibrionen, nur eine geringe Zahl von Leukozyten. Diese war nach 2½ Std. beträchtlich angestiegen, und jetzt traten auch spärliche, träge bewegliche Vibrionen auf, die sich dann etwas vermehrten, aber nie so zahlreich wie bei der gewöhnlichen Infektion wurden. In der Bauchhöhle der toten Tiere war sehr wenig aber sehr leukozytenreiches Exsudat mit wenigen Vibrionen vorhanden. 1 Öse Exsudat ergab im Mittel 491 Kolonien. Viele Auflagerungen.
54	2 ccm ip.	mit ½ Öse Cholerakultur »Stamm«	Nach ca. 30 Std.	Nach 2½ Std. war die Vermehrung bereits eine massenhafte geworden. Das Exsudat des toten Tieres war zellarm, wimmelte aber von Vibrionen. Reichliche Eiterauflagerungen, deren Zellen aber nur verhältnismäfsig spärliche Phagozytose zeigen.
55	—	Wie 54	—	Ohne Krankkeit geblieben.

Tabelle XXXIV.

Als Aggressin dient das vereinte, völlig klar zentrifugierte Exsudat eines Choleratieres. Der wie früher beschriebene, von Zellen befreite und nur Vibrionen führende Satz wird gewaschen, in wenig NaCl-Lösung aufgeschwemmt und 1 Tropfen der dicht trüben Aufschwemmung der für das Kontrolltier bestimmten Flüssigkeit zugesetzt. Tiere von 250 g.

Nr.	Aggressin	Vibrionen	Tod	Bemerkungen
125	1 ccm	mit 1/5 Öse Cholerakultur »Stamm« ip.	—	Lebt.
126	3 ccm	dgl.	18 Std.	Befund einer ziemlich schweren Infektion mit ungeheurer Menge von Vibrionen.
127	—	1/5 Öse Cholerakultur »Stamm« ip.	—	Lebt.
128	3 ccm ip.	—	16 Std.	Wie 126.

Die Anwendung des Kontrollversuches mit Meerschweinchen 127 lehrt sofort, dafs nicht eine höhere Virulenz der im Exsudate noch vorhandenen tierischen Vibrionen das Ergebnis der Aggressinversuche erklären kann; denn dieses Tier mufste vielmals mehr tierische Vibrionen erhalten haben, als alle Versuchstiere zusammengenommen. Wie wenige Vibrionen aber zur Infektion unter Aggressineinflufs ausreichen, beweist neben Nr. 128, besonders Nr. 50. Hier hatte die Choleraform zwar nicht völlige Keimfreiheit, aber doch eine so weitgehende herbeigeführt, dafs eine Öse auf schrägem Agar keine Kolonien mehr lieferte. Gleichwohl starb das Tier mit dem Befunde des III. Pfeifferschen Stadiums. Der Versuch in Tabelle XXXIV zeigt aber weiter die wichtige, noch mehrfach zu besprechende Tatsache, dafs von ein und demselben aggressinhaltigen Exsudate eine gewisse Menge erforderlich ist. Diese hängt natürlich von der Stärke seiner aggressiven Eigenschaft ab, die sehr wechseln kann, namentlich bei Cholera. Es sei hier eine für alle späteren Versuche geltende Überlegung kurz erwähnt. Bei allen Versuchen, in denen Vibrionen und aggressinhaltige Flüssigkeiten verwendet werden, kommt es für den Ausfall auf die Mengen und die Stärke beider an. Bei vielem und starkem Aggressin

erreichen ganz wenige Vibrionen dasselbe Resultat, das in andern Fällen bei wenigem und schwachem Aggressin nur durch eine Steigerung der Vibrionenzahl erreicht werden kann. Da man nun, namentlich bei der viel schwerer als Typhus zu behandelnden Cholera, einem Exsudate seine aggressiven Wirkungen nicht ohne weiteres ansehen kann, so ergibt sich stets die Notwendigkeit, beide wirksame Faktoren zu berücksichtigen, deren Zusammenwirken den Tod des Tieres herbeiführt.

Tabelle XXXV.

Vereintes Exsudat der Typhustiere Nr. 117 und 118. Den Kontrollflüssigkeiten wird 1 Tropfen dicht trüber Aufschwemmung der gewaschenen Exsudatbazillen zugesetzt.

No.	Aggressin	Bazillen	Tod	Bemerkungen
119	1 ccm	mit 1/16 Öse Typhuskultur »Stamm« ip.	in der Nacht	Trübes, ziemlich leukozytenreiches Exsudat mit zahllosen Bazillen. Mäßige Auflagerungen mit viel großen polynukleären Zellen und Makrophagen und starken Granulaphagozytose.
120	2,5 ccm	mit 1/16 Öse Typhuskultur »Stamm« ip.	in der Nacht	Bild schwerer Infektion.
121	erst 0,06 ccm Ser. »Edg.«, dann 2,5 ccm	mit 1/16 Öse Typhuskultur »Stamm« ip.	nach 20 Std.	Sehr zahlreiche Bazillen im Exsudat, aber darin viele gequollen und zum Teil in Granula verwandelt.
122	—	mit 1/16 Öse Typhuskultur »Stamm« ip.	—	Lebt.
123	—	erst 0,06 ccm Serum »Edgar«, dann 1/16 Öse Typhusagarkultur »Stamm« ip.	—	Lebt.
124	2,5 ccm ip.	—	in der Nacht	Bild einer mittelschweren Infektion.

Auch hier kann natürlich von einem Einflusse etwaiger höherer Virulenz der tierischen Bazillen nicht die Rede sein, da das Kontrolltier 122 (und 123) viel mehr davon erhalten hatte, als im Exsudat enthalten waren. Es enthielt nämlich 0,1 ccm Aggressin 1360, 0,1 ccm der für die Kontrolltiere verwendeten Aufschwemmung tierischer Bazillen (vor Zusatz der Kulturbazillen) über 10000 Keime.

Am schönsten tritt der Einfluſs der Aggressine bei Verwendung sehr wenig virulenter Bazillen hervor, wie dies Kikuchi für Dysenterie zeigen konnte, oder bei Benutzung wenig empfänglicher Tierarten, wie es Weil bei Hühnercholeraversuchen am Meerschweinchen nachwies.

Die zweite der erwähnten Eigenschaften des Aggressins ist eine fast selbstverständliche Folgerung. Wo sonst das Bild leichter Infektion in Anbetracht von Bazillenzahl und Virulenz zu erwarten wäre, tritt das Bild des IV. Pfeifferschen Stadiums auf. Da der Unterschied des III. und IV. Pfeifferschen Stadiums durch den Zellgehalt der Bauchhöhle des gestorbenen Tieres bedingt wird, so läſst sich schon hieraus ein Schluſs auf die Beeinflussung der Leukozyten durch die Aggressine ziehen. Fast jede der noch anzuführenden Tabellen zeigt diese Eigenschaft der Aggressine, z. B. schon bei Verwendung untertödlicher Bazillenmengen. Tabelle XXXV.

Von gröſster Wichtigkeit, nicht nur für die Beurteilung des Pfeifferschen Versuches, sondern auch für die in diesem Falle nicht vorauszusehende und schwer zu erklärende Wirkung der Aggressine ist die Erscheinung, daſs bei ihrer Verwendung ein bakterizides Immunserum nicht mehr schützt. Der gröſste Teil der bisher angestellten Versuche hatte das Studium dieser Wirkung zum Gegenstande, und es werden daher auch die hierbei gemachten Beobachtungen über Stärke und Widerstandsfähigkeit der Aggressine hier angeführt.

Der Unterschied zwischen Typhus und Cholera, der sich durch alle bisherigen Mitteilungen hindurchzieht, und der sich kurz so zusammenfassen läſst, daſs alles, worauf es ankommt, bei den widerstandsfähigen Typhusbazillen leichter, schneller und klarer zu sehen ist als bei dem empfindlichen Choleravibrio, zeigte sich auch hier. Was sich bei ersteren auf den ersten Versuch hin ergab, muſste bei letzterem oft recht mühsam erst aufgesucht werden. Die Besprechung der Typhusversuche tritt daher hier an die erste Stelle.

Tabelle XXXVI.

Exsudat des Typhustieres 9, klar, unter Anwendung von Asbestpulver zentrifugiert und kurze Zeit mit Chloroform behandelt. Ausstrich von 1 Öse ergab nur wenige Kolonien.

Nr.	Serum	Aggressin und Bazillen	Tod	Bemerkungen
10	0,06 ccm Serum »Edgar« ip.	2 St. später 2 ccm Aggress. + $^1/_4$ Öse Typhusagar kultur ip.	12 Std.	Befund der schweren Infektion. Sehr viele Bazillen, manche gequollen.
11	Wie 10	Wie 10 aber mit NaCl-Lösung	—	Lebt, ohne Krankheit gezeigt zu haben.
12	—	Wie 10	in der Nacht	Befund der schweren Infektion mit bazillenreichem, sehr zellarmem Exsudate, sehr wenigen fibrinösen Auflagerungen. Die darin enthaltenen verhältnismäfsig spärlichen Makrophagen und grofse polynukleäre Leukozyten zeigen Granulaphagozytose.
13	—	Wie 11	in der Nacht	Befund leichter Infektion mit bazillen- und zellreichem Exsudate. Die Zellen meist polynukleär mit Granulaphagozytose. Reichliche, eitrige Auflagerungen auf Netz, Milz und Leber mit sehr vielen grofsen polynukleären Leukozyten und starken Granulaphagozytose.

Tabelle XXXVII.

Vereintes Exsudat von 2 Typhustieren, γ und δ, das teils nur zentrifugiert, teils zentrifugiert und durch Karbolzusatz gröfstenteils sterilisiert ist.

Nr.	Serum	Bazillen	Tod	Bemerkungen
30	0,05 ccm Serum »Edgar« ip.	$1^1/_2$ Std. später 2,5 ccm steril. Aggressin + 1 Öse Typhuskultur ip.	> 15 Std.	Bild einer mittelschweren Infektion. Bazillen im Exsudate in grofser Menge, aber sehr viele gequollen und z. T. in Granula verwandelt. Auch die unveränderten Bazillen färben sich schlecht.
31	Wie 30	Wie 30 mit nicht sterilisiertem Aggressin	> 15 Std.	Bild der schweren Infektion. Bazillen in grofser Menge, aber fast sämtlich gequollen, viele in mehr weniger deutliche Granula verwandelt.
32	—	Wie 30 aber statt mit Aggressin mit NaCl-Lösung	—	Lebt, ohne Krankheit gezeigt zu haben.

Tabelle XXXVIII.

Bezüglich der Herkunft des Aggressins vgl. Tab. XXIX.

Nr.	Serum	Bazillen	Tod	Bemerkungen
99	0,25 ccm Serum »Edg.« ip.	nach $^1/_2$ Std. 2,5 ccm Aggressin + Tierbazillen ip.	in der Nacht	Sofortige Vermehrung. Bild der schweren Infektion.
100	wie 99	Wie 99 mit Kulturbazillen	—	Bazillen in der Bauchhöhle ca. 8 Std. lang, neben vielen Leukozyten reichlich mit Quellung u. Granulabildung nachzuweisen. Tier am Abend totkrank, erholt sich wider Erwarten und stirbt erst nach 3 Tagen marastisch.
101	0,15 ccm Serum »Edg.« ip.	nach $^1/_2$ Std. 2,5 ccm NaCl-Lösung + Tierbazillen	22 Std.	S. Tab. XXIX.
102	wie 101	nach $^1/_2$ Std. 2,5 ccm Aggressin + Tierbazillen	in der Nacht	Bild der mittelschweren Infektion.
103	wie 101	nach $^1/_2$ Std. 2,5 ccm NaCl-Lösung + Kulturbazillen	—	Lebt; 3 Std. nach der Einspritzung neben vielen Leukozyten nur noch spärliche gequollene Bazillen und Körnchen, siehe Tab. XXIX.
104	wie 101	nach $^1/_2$ Std. 2,5 ccm Aggressin + Kulturbazillen	in der Nacht	Bild der mittelschweren Infektion.

Tabelle XXXIX.

Exsudat eines Typhustieres 109. Vollständig klar zentrifugiert. Den für die Kontrolltiere bestimmten Bazillenaufschwemmungen wird 1 Tropfen dichter Aufschwemmung des gewaschenen Bazillensatzes zugesetzt.

Nr.	Serum	Bazillen	Tod	Bemerkungen
110	0,1 ccm Serum »Edgar« ip.	nach $^1/_4$ Std. 0,75 ccm Aggressin + $^1/_2$ Öse Kulturbazillen	—	Bazillen sind unter fortwährender Granulabildung bis 4 Std. nach der Einspritzung reichlich nachweisbar, scheinen sich sogar vermehrt zu haben; dann bleibt ihre Zahl erst stehen und nimmt schließlich ab. Das Tier ist am Abend schwer krank, erholt sich aber unter starker Abmagerung.
111	wie 110	nach $^1/_4$ Std. 3 ccm Aggressin + $^1/_2$ Öse Kulturbazillen	in der Nacht	Bis ca. 2 Std. nach der Einspritzung bleibt die Zahl der Bazillen unter Quellungserscheinungen u. Granulabildung ziemlich unverändert, dann fortschreitende Vermehrung. Bild der schweren Infektion.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
112	wie 110	nach $^1/_4$ Std. 3 ccm NaCl-Lösung + $^1/_2$ Öse Kulturbazillen	—	Schon nach 1 Std. nur stark gequollene Bazillen und Granula. Lebt, ohne Krankheit gezeigt zu haben.
113	—	wie 112	in der Nacht	Schwere Infektion.

Tabelle XL.

Exsudat eines Typhustieres 142, sorgfältig zentrifugiert.

Nr.	Serum	Bazillen	Tod	Bemerkungen
144	0,08 ccm Serum »Edgar« ip.	nach $^1/_4$ Std. 0,5 ccm Aggressin + $^1/_4$ Öse Kulturbaz. ip.	nach 20 bis 22 Std.	Das Tier enthält kein eigentliches Exsudat. Die vermehrte Feuchtigkeit ist zellarm, aber sehr reich an Bazillen, die oft gequollen und schlecht gefärbt erscheinen. Viel Eiter auf Leber, Netz und Milz.
145	wie 144	nach $^1/_4$ Std. 1,5 ccm Aggress. + $^1/_4$ Öse Kulturbaz. ip.	nach 20 Std.	Bild der mittelschweren Infektion.
148	wie 144	nach $^1/_4$ Std. wie 145, aber das Aggressin $^1/_2$ Std. auf 55° erhitzt	—	Lebt ohne Krankheit.
149	wie 144	nach $^1/_4$ Std. 1,5 ccm Aggress. ohne Bazillen	—	Lebt ohne Krankheit.

In Beziehung zum Pfeifferschen Versuche interessiert hier vor allem das Versagen der Immunserumwirkung gegen Bazillenmengen, die an sich durch viel kleinere Serumquantitäten unschädlich gemacht worden wären. Es mufs sofort hervorgehoben werden, dafs dieses Versagen kein vollständiges ist. Die Bazillen, die im zentrifugierten Exsudate selbst noch vorhanden sind, vermögen nicht gegen die Serumwirkung aufzukommen, wie auch die verhältnismäfsig geringen Mengen tierischer Bazillen, welche den Kontrollproben zugesetzt wurden, vertragen werden. Damit stimmt überein, dafs sehr hohe (0,25 ccm) Serummengen bei Aggressinzusatz zwar nicht so glatt schützten wie bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung, aber doch noch das Tier eine Zeitlang am Leben erhalten konnten. Alles das hängt wohl mit

der in den Tabellen mehrfach erwähnten Erscheinung zusammen, dafs das Pfeiffersche Phänomen durchaus nicht vollständig unterdrückt wird, sondern mehr weniger deutlich und stark immer stattfindet. Bei Verwendung tierischer Bazillen kann es allerdings nur wenig hervortreten, doch reicht es offenbar immer noch aus, um eine geringe Bazillenzahl zur Auflösung zu bringen. Ganz deutlich besteht Granulabildung neben fortschreitender Vermehrung der Bazillen bei Anwendung von Kulturbazillen und Aggressin und zwar lange Zeit hindurch, so dafs noch im toten Tiere alle Grade der Quellung, schlechter Färbung u. dgl. reichlich gefunden werden können. Es ist klar, dafs bei kleiner Zahl der Bazillen, bei geringer Stärke und Menge des Aggressins, schliefslich bei sehr grofsem Überschusse von Immunserum dann noch ein bakterizider Impfschutz möglich sein kann.

Das Bestehen der Bazillenauflösung und der dennoch erfolgende Tod der Tiere, nach Anwendung von Kulturmengen, die sonst ohne jeden Schaden vertragen werden, bildet einen starken Beweis gegen die Bedeutung des Pfeifferschen Versuches. Es braucht kaum darauf hingewiesen zu werden, dafs die einfache Überimpfung eines einem toten Tiere entnommenen Typhusexsudates in der Menge von 1 und selbst 0,25 ccm durch grofse Mengen von Serum nicht unwirksam gemacht werden kann (s. Tab. L). Es ist aufserordentlich schwer, die Erscheinung zu erklären. Natürlich liegt es nahe, an jene Wirkungen zu denken, die man Antikomplementen und Antiimmunkörpern zuschreibt. Es ist aber kaum verständlich, wie so ein normales Tier, das einer höchstens 15 Stunden dauernden Typhusinfektion unterliegt, in dem von Bazillen wimmelnden Exsudate Antikomplemente und Antiimmunkörper ausbilden könnte. Dagegen sprechen auch noch andere Gründe, die gleichzeitig gegen einen anderen Erklärungsversuch angeführt werden können. Es wäre nämlich im Sinne der herrschenden Anschauung an die »freien Rezeptoren« von Neisser und Shiga[1]) zu denken, die ins Exsudat infolge Auflösung von Bakterien od. dgl. übergegangen wären. Besetzung

1) Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 4.

solcher mit dem Serumimmunkörper würde denselben für die frischen, eingespritzten Bazillen unwirksam machen. Es soll hier nicht untersucht werden, ob diese Vorstellungsweise möglich ist. Dies aber angenommen, so kann sie ebensowenig wie etwaige Antikomplemente und Immunkörper erklären, dafs trotzdem die Bazillenauflösung stattfindet. Dabei ist weiter zu bedenken, dafs die angewendeten Serummengen wechselten und die einfach schützende Gabe oft um mehr wie das Hundertfache überstiegen. Wenn aber für Typhus, wo das Pfeiffersche Phänomen unleugbar aber unvollständig stattfindet, doch noch an derartige Verhältnisse gedacht werden könnte, so wird dies ganz unmöglich für Cholera. Denn bei dieser findet die Körnchenbildung und Auflösung der Vibrionen nicht nur statt, sondern sie ist in der Mehrzahl der Fälle eine vollständige. Und dennoch sterben die mit Aggressin behandelten Versuchstiere.

Tabelle XLI.

Als Agressin dient Exsudat eines Choleratieres β, das mit 0,25 % Karbol sterilisiert war.

Nr.	Serum + Bazillen	Tot	Bemerkungen
35	Zuerst 0,5 ccm Aggressin, gleich darauf 1/3 Öse Cholerakultur + 0,008 ccm Serum »Edith« Ip.		Vollständiger Körnchenzerfall nach 3/4 Std. Lebt ohne Krankheit gezeigt zu haben.
36	1,5 ccm Aggressin sonst wie 35		Wie 35. Das Tier war nach 6 Std. typisch cholerakrank und äufserst hinfällig, erholte sich aber unter starker Abmagerung.
37	3 ccm Aggressin sonst wie 35	Ca. 40 Std.	Vollständiger Körnchenzerfall nach 3/4 Std. Der Leukozytenzuflufs, der bei 35 und 36 nach 3 und 6 Std. stark auftrat, war hier nur sehr schwach. Das Tier zeigte nach 5 Std. das Bild der schweren Choleraperitonitis. Erst nach 8 Std. traten Leukozyten auf. Das Tier starb nach ca. 40 Std., hatte wenig, sehr leukozytenreiches Exsudat, spärliche, fibrinöse Auflagerungen auf der Leber. Vibrionen und Granula waren nicht zu finden, ein Ausstrich von 1 Öse Exsudat lieferte 1 Cholerakolonie.
38	Wie 35 mit NaCl-Lösung statt Aggressin.		Vollständiger Körnchenzerfall nach 3/4 Std. Lebt ohne Krankheit gezeigt zu haben.

Tabelle XLII.

Als Aggressin dient das völlig klar zentrifugierte Exsudat eines Choleratieres γ. Zur Infektion werden die daraus abzentrifugierten und gewaschenen Vibrionen verwendet, die in 5 ccm Na Cl-Lösung aufgeschwemmt werden. (Der Satz war nicht reichlich.) Die Versuchstiere mit Aggressin erhalten 0,9 ccm, die Kontrolltiere 1 ccm dieser Aufschwemmung.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
41	0,005 ccm Serum »Edith« ip.	Nach $^1/_2$ Std. 3 ccm Aggressin + 0,9 ccm Bazillenaufschwemmung	> 12 Std.	Schon nach $^1/_4$ Std. nur Granula. Nach 4 Std. haben auch diese stark abgenommen; wenig Leukozyten. Im toten Tiere ca. 3 ccm sehr zellarmes Exsudat. Spärliche Auflagerungen. Vibrionen und Granula (außer in einigen Makrophagen) nicht sicher zu finden, doch liefert 1 Öse Exsudat 372 Kolonien.
42	Wie 41	Wie 41 mit Na Cl-Lösung und 1 ccm Bazillenaufschwemmung		Nach $^1/_4$ Std. nur Granula. Lebt ohne Krankheit zu zeigen.
43	—	Wie 42	13-22 Std.	Bild der mittelschweren Infektion.

Tabelle XLIII.

Anordnung wie im Versuch der vorigen Tab. Exsudat und Bazillen von Nr. 43.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
44	0,1 ccm Serum »Edith« ip.	1 Std. später 2 ccm Aggressin + 0,9 ccm Bazillenaufschwemmung	7 Std.	Nach 1 Std. vollständiger Körnchenzerfall. Das Tier ist bereits nach 5 Std. typisch krank. Im toten Tiere 5 ccm trübes Exsudat mit sehr viel Leukozyten, darunter viel Makrophagen und große polynukleäre und spärliche Granulaphagozytose. Freie Granula wurde gefunden. Viel eitrige Anflagerungen. Kulturen steril.
45	0,001 ccm Serum »Edith« ip.	Wie 44	Ca. 40 Std.	Nach 1 Std. vollständiger Körnchenzerfall, nach 5 Std. noch kein erheblicher Leukozytenzutritt in die Bauchhöhle. Im toten Tiere kein Exsudat, spärliche Anflagerungen, mit zerfallenden Zellen ohne Phagozytose. Vibrionen und Granula nicht zu finden, Abstriche von den Auflagerungen liefern spärlich Kulturen.
46	0,001 ccm Serum »Edith« ip.	Wie 44 mit Na Cl-Lösung und 1 ccm Bazillenaufschwemmung		Nach 1 Std. vollständiger Körnchenzerfall. Bereits nach 2 Std. sehr starker Leukozytenzufluß in die Bauchhöhle, deren Exsudat in Kurzem rein eitrig ist. Das Tier blieb andauernd munter.
47	—	Wie 46	12 Std.	Bild der mittelschweren Infektion.

Tabelle XLIV.

Exsudat von Nr. 47 zentrifugiert und chloroformiert (s. Tab. XXXIII). Agarkultur von Cholera »Stamm«.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
51	0,1 ccm Serum »Edith« ip.	Nach 1/2 Std. 2 ccm Aggressin + 1/2 Öse Cholerakultur ip.	Nach 4 1/2 Tagen	Nach 1/2 Std. bereits Granula spärlich geworden. Im toten Tiere hochgradige Atrophie aller Organe. Weder Exsudat noch Auflagerungen, noch Verklebungen der Därme. Kulturen steril.
52	0,01 ccm Serum »Edith« ip.	Wie 51	Nach 5 Tagen	Wie 51.
53	0,001 ccm Serum »Edith« ip.	Wie 51		Hat nie Krankheit oder auffällige Abmagerung gezeigt.
54	—	Wie 51	Nach 30 Std.	S. Tabelle XXXIII.
55	—	Wie 51 mit Na Cl-Lösung		S. Tabelle XXXIII.
56	0,1 ccm Serum »Edith« ip.	Wie 55		Bereits nach 1/2 Std. fast keine Granula mehr. Das Tier hat nie Krankheit gezeigt.
57	0,001 ccm Serum »Edith« ip.	Wie 55		Nach 1/2 Std. nur Granula. Das Tier hat nie Krankheit gezeigt.

Tabelle XLV.

Als Aggressin dient das völlig klar zentrifugierte Exsudat eines Cholerameerschweinchens Nr. 129, teils als solches, teils nach Chloroformsterilisation. Dasselbe war wie der gewaschene Bazillensatz über Nacht auf Eis aufgehoben worden.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
130	0,001 ccm Serum »Pfeiffer« ip.	Gleich darauf 3 ccm Aggressin + 1 ccm Bazillen ip.	In der Nacht	Körnchenbildung nach 1 Std. vollendet. Kein Leukozytenzufluſs in die Bauchhöhle bis zu 7 Std., wo das Tier bereits sehr krank ist. Im toten Tiere 12 ccm sehr wenig trüben Exsudates, sonst spärliche Lymphozyten und kleine polynukleäre Leukozyten und vereinzelte Körnchen. Keine Spur von Auflagerungen auf Leber, Netz und Milz. 3 Ösen des Exsudates liefern 432 Kolonien.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
131	Wie 130	Wie 130, aber mit Chloroform-aggressin	22 Std.	Körnchenbildung nach 1 Std. vollständig. Bis zu 7 Std. kein Leukozytenzufluſs in die Bauchhöhle, doch finden sich in den 6 ccm Exsudat des toten Tieres kleine Flöckchen, die aus verklumpten kleinen polynukleären Zellen ohne Phagozytose bestehen. Spärliche Auflagerungen auf der Leber. 4 Ösen Exsudat ergaben 272 Kolonien.
132	Wie 130	Wie 130, aber mit NaCl-Lösung		Körnchenzerfall nach 1 Std. vollständig. Nach ca. 3 Std. Leukozytenzufluſs in die Bauchhöhle, die nach 7 Std reinen Eiter enthält. Das Tier hatte nie Krankheit gezeigt.

Tabelle XLVI.

Als Aggressin dient das unter Zusatz von Asbestpulver zentrifugierte und fast steril gewordene (0,1 ccm = 89 Vibrionen) Exsudat eines Cholerameerschweinchens Nr. 134. Bazillen aus dem Tiere 133 (s. später Tab. LII).

Nr	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
137	0,001 ccm Serum »Pfeiffer« ip.	Nach 1/4 Std. 0,75 ccm Aggressin + 4 Tropfen Bazillenaufschwemmung		Nach 1 Std. vollständiger Körnchenzerfall. Nach 5 St. Leukozytenzufluſs; die meisten Leukozyten in Klumpen. Das Tier zeigte keine deutlich. Krankheitserscheinungen.
138	Wie 137	Nach 1/2 Std. 2,25 ccm Aggressin + 4 Tropfen Bazillenaufschwemmung	10 Std.	Nach 1 Std. sehr viele Granula, daneben aber auch noch einzelne Vibrionen. Nach 4 Std. deutliche Zunahme der Vibrionen, aber immer noch verhältnismäſsig spärlich; danehen viele Granula. Im toten Tiere 7 ccm wenig trübes, sehr zellarmes Exsudat; meist Lymphozyten und kleine polynukleäre Zellen, diese fast nur in Haufen, keine Phagozytose. Vibrionen in groſser Zahl, aber doch weniger als sonst im Exsudate von Choleratieren. Daneben viele Granula. Keine Auflagerungen auf Leber, Netz und Milz.
139	Wie 137	Wie 138, aber das Aggressin 1/2 Std. auf [illegible]—60° erwärmt		Nach 1 Std. vollständiger Körnchenzerfall, nach 3 Std. reichlicher Leukozytenzufluſs in die Bauchhöhle. Lebt, ohne Krankheit gezeigt zu haben.
140	Wie 137	Wie 138 mit NaCl-Lösung		Wie 139.
141	—	Wie 140	In der Nacht	Befund mittelschwere Infektion.

Dafs Antiimmunkörper, Antikomplemente und freie Rezeptoren die aggressiven Wirkungen eines Choleraexsudates nicht erklären können, beweisen solche Versuche sicher. Nicht minder, dafs die kaum gehinderte Bakteriolyse allein nicht die Immunität eines Tieres bedeuten kann; denn mit Ausnahme eines Falles, wo sie unvollständig blieb, fand sie immer in kürzester Zeit statt. Es mufs noch etwas anderes zur echten Cholera- und Typhusimmunität gehören, was durch Immunisierung mit Bakterienkulturen nicht erzeugt wird und dessen Fehlen durch die Aggressinversuche aufgedeckt wird.

Was das ist, ist freilich kaum mit Wahrscheinlichkeit zu sagen. Am nächstliegenden wäre es wohl, an Gift zu denken, wobei zwei verschiedene Gifte in Betracht kommen könnten: solche, welche, wie etwa das Diphtherietoxin, vom Bazillus abgeschieden werden und solche, die in den Bazillenleibern sitzen und nur durch Auflösung derselben frei werden. Bekanntlich hat es, trotz des Widerspruches Pfeiffers nie an Versuchen gefehlt, echte lösliche Gifte des Typhusbazillus und Choleravibrio aufzufinden, und es sei hier nur an die Versuche von Metschnikoff, Roux und Taurelli-Salimbeni[1]) erinnert, bei denen der Tierkörper eine grofse, wenn auch nicht unmittelbare Rolle spielte. Es wird aber immer schwer sein, derartige ausgeschiedene Gifte von jenen auseinanderzuhalten, die durch Auflösung von Bazillenleibern in der Wachstumflüssigkeit auftreten, und es ist bekannt, dafs Pfeiffer jedes Gift des Choleravibrio, das als gelöst angegeben wurde, auf eine Vibrionenauflösung zurückführt. Im Exsudate von Cholera- und Typhusmeerschweinchen finden Zerstörungen von Bazillen offenkundig statt und nichts hindert, mangels jedes Mafsstabes, derartige Auflösungen neben der fortgesetzten Vermehrung in beliebig grofsem Umfange vor sich gehen zu lassen. Dann müfste das Cholera- und Typhusexsudat selbst giftig sein. Da aber Pfeiffer stets und mit grofser Entschiedenheit das Fehlen antitoxischer Eigenschaften für die bakteriziden Immunsera betont hat, so liefsen sich die Aggressinversuche leicht erklären. Das Gift, welches das Exsudat enthält,

1) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1896, Nr. 5.

vermehrt, um das Gift, welches durch Auflösung der neu eingespritzten Vibrionen entsteht, würde das Versuchstier töten. Damit würde der merkwürdige Befund von Tabelle XLIV übereinstimmen, wo Tiere mit großen Serummengen eher starben als solche mit kleinen.

Die Möglichkeit eines derartigen Erklärungsversuches muß zugegeben werden; doch ist manches damit nicht leicht zu vereinbaren. Zunächst die Typhusversuche; bei diesen findet zwar immer Bakteriolyse geringeren oder höheren Grades statt, aber ebenso regelmäßig Vermehrung. Wenn nur der Giftgehalt des Exsudates das Entscheidende wäre, so ist nicht einzusehen, warum die eingespritzten Bazillen nicht einfach aufgelöst würden, wie in den Kontrolltieren und dann das Tier töteten; Serum ist dazu genug vorhanden und Anfänge der Auflösung finden sich ja zu jeder Zeit. Es muß aber, selbst die Wichtigkeit des Giftes zugegeben, noch etwas im Exsudate vorhanden sein, was die Vermehrung der Bazillen gestattet. Wenn man Tabelle XXXI betrachtet, wo die tierischen Typhusbazillen dem Serum widerstanden, die Kulturbazillen an sich nicht, wohl aber unter dem Einflusse des Typhusexsudates sich vermehren konnten, so liegt es nahe, zu sagen, daß das Aggressin die Fähigkeit habe, gezüchtete Bazillen auf den Zustand von tierischen zurückzuführen, womit freilich auch nicht viel gewonnen wäre. Der Befund an Meerschweinchen 138, allerdings bisher der einzige dieser Art, zeigt, daß die Vermehrung trotz offenkundiger Immunserumwirkung auch bei Cholera möglich ist und wahrscheinlich nur von der Stärke des verwendeten Aggressins abhängt. Wenn in der Mehrzahl der Fälle dennoch die Bakteriolyse an den Choleravibrionen vollständig abläuft, so ist der Grund dafür einfach in jener oft hervorgehobenen Hinfälligkeit zu suchen, die ja längst den Choleravibrio vor dem Typhusbazillus zum bevorzugten Gegenstande bakterizider Studien gemacht hat.

Weiter spricht gegen die ausschlaggebende Bedeutung der gelösten Bakterienleiber die sehr große Unbeständigkeit der aggressiven Eigenschaften. Die Erwärmung durch ½ Stunde auf 55—60° vertragen sie nicht mehr, schon Sterilisation des Ex-

sudates mit Chloroform, Toluol und kleinen Mengen Karbolsäure vermag sie zu schwächen. Derartiger Mittel kann man sich aber ungescheut bedienen, um Choleravibrionen abzutöten und dann ihre Giftwirkung zu studieren. Grofses Gewicht soll übrigens auf diesen Punkt nicht gelegt werden.

Dazu kommt dann die verhältnismäfsig geringe Giftigkeit der aggressiven Exsudate an sich. Zwar ist es meist nicht möglich, sie Meerschweinchen ohne vorherige Sterilisation einzuspritzen, da die Tiere unter dem Einflusse des Aggressins schon mit wenigen Bazillen zugrunde gehen. Sterilisation könnte aber, wenn man es schon zugeben will, dafs die gelösten Bakterienbestandteile dagegen empfindlicher sind als die Bakterien selbst, die Giftigkeit schädigen. Immerhin ist die Schädigung der Aggressine durch Chloroform z. B. nicht so stark, als dafs ihre besondere Wirkuug nicht noch hervortreten könnte. Und doch vertragen normale Meerschweinchen grofse Mengen davon (bis 5 ccm), ohne rasch zugrunde zu gehen. Es ist bisher überhaupt nicht gelungen, Meerschweinchen durch aggressive Exsudate allein schnell zu töten; dafs sie deswegen nicht ungiftig sind und langdauernde Abmagerungen hervorrufen, besonders bei Kaninchen, ist freilich ebenso sicher. Man kann sich da nur sehr schwer vorstellen, dafs gerade 1/4 oder 1/2 Öse voll Bakterien durch ihre Auflösung das zum Tode des Tieres noch fehlende Gift liefern sollen. Dazu kommt noch, dafs das Aggressin allein, auch wenn es nicht keimfrei ist, unter dem Serumeinflusse ohne Tod ertragen wird.

Dennoch ist nicht zu verkennen, dafs der Tod so vieler Cholerameerschweinchen, die gleichzeitig Aggressin- und Immunserum erhalten hatten, durchaus den Eindruck einer Vergiftung macht. Da unter dem Einflusse des Serums weder Bazillen noch Aggressin allein eine erhebliche Wirkung auszuüben vermögen, so liegt es nahe, an ein neues, erst beim Zusammentreten beider gebildetes Gift zu denken. Doch haben die bisherigen Versuche noch keinen sicheren Beweis für diese Möglichkeit erbracht und und können übergangen werden. Jedenfalls vermochte das Exsudat von Tieren, die wie Nr. 44 zugrunde gegangen waren, weder aggressiv noch giftig zu wirken.

Den bedeutungsvollsten Einwand gegen die Bedeutung gelöster, giftiger Bakterienleiber in den Exsudaten liefert aber derselbe Umstand, der das Studium der Aggressine zu einem recht schwierigen macht. Nicht jedes Exsudat ist nämlich aggressiv. Das gilt weniger für Typhus, wo nur selten ein solches gefunden wurde, das nicht bei entsprechender Menge, die freilich sehr wechselte, ein Immunserum hätte unwirksam machen können. Bei Cholera war aber das Versagen des Exsudates, das Fehlen der Aggressine viel häufiger.

Tabelle XLVII.

Exsudat eines Cholerameerschweinchens 92, klar zentrifugiert. Den für die Kontrolltiere bestimmten Vibrionen wird 1 Tropfen dicht trüber Aufschwemmung des gewaschenen Satzes aus dem Exsudate 92 zugesetzt.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
93	0,001 ccm Serum »Pfeiffer« ip.	nach 1/4 Std. 4,5 ccm Aggress. + 1 Öse Cholerakultur ip.	—	Nach 1/2 Std. sehr spärliche, nach 1 Std. keine Vibrionen mehr, viele Granula. Bereits nach 2 Std. begann der Leukozytenzufluſs in die Bauchhöhle, blieb bis 4 Std. mäſsig, um dann plötzlich sehr stark zu werden. Nach 7 Std. reiner Eiter. Das Tier zeigte, auch in den ersten Tagen, nicht einmal Abmagerung.
94	wie 93	wie 93 mit NaCl-Lösung	—	Wie 93, nur tritt der reichliche Leukozytenzufluſs um 1 Std. früher ein. Außer leichter Abmagerung in den ersten Tagen keine Krankheitserscheinung.
95	—	wie 94	in der Nacht	Befund der schweren Infektion.

Das Meerschweinchen, welches das Exsudat zu diesem Versuche lieferte, hatte wohl ebensoviel Vibrionen enthalten und aufgelöst als andere, die brauchbare Aggressine ergeben hatten, die Auflösung der reichlich eingespritzten Vibrionen fand ebenfalls ungehindert statt, und dennoch machten 4,5 ccm Exsudat das Versuchstier nicht einmal krank.

Die angeführten Gründe sprechen sehr gegen eine Erklärung der Aggressinversuche einzig auf Grundlage einer Annahme gelöster, giftiger Bakterienbestandteile und eines Hinweises auf die fehlendende antitoxische Wirkung des Immunserums. Es bleibt nichts

anderes als die Annahme einer neuen, noch nicht bekannten Eigenschaft der Typhusbazillen und Choleravibrionen und wahrscheinlich aller Bakterien übrig, die hier als aggressive angeführt wird. Die nächste Frage ist natürlich die nach der Natur der aggressiven Fähigkeiten und weiter die nach den Beziehungen zwischen aggressiven und giftigen Wirkuugen auf den Tierkörper.

In bezug auf das Wesen der Aggressinwirkung ist vorläufig nur ein Punkt festzustellen gewesen, der in den angeführten Tabellen mehrfach erwähnt ist. Wie namentlich von Gruber und Durham genauer uutersucht wurde, stellen sich bei immunen Tieren bald Leukozyten nach der Bazilleneinspritzung in der Bauchhöhle ein und nehmen dann steigend an Zahl zu. Das ist ein aufserordentlich regelmäfsiges Vorkommnis und in eigenen Versuchen begann meist nach zwei Stunden der Leukozytenzuflufs, um nach 4—6 Stunden soweit gestiegen zu sein, dafs das Glasröhrchen reinen Eiter aus der Bauchhöhle hervorbrachte. Bei den Aggressintieren blieb das reichliche Zuströmen vou Zellen trotz volleudeter Bakteriolyse bei Cholera in den reinsten Fällen ganz aus, oder es verspätete sich beträchtlich, oder es war der Zahl der Leukozyten nach, gering. Bei Typhus läfst sich im wesentlichen zwar ähnliches verfolgen, doch liegen die Verhältnisse wegen der sofortigen Vermehrung verwickelter. Ist nun das Exsudat eines Choleratieres nicht aggressiv wirksam, wie dies Tabelle XLVII schön zeigt, so tritt der reichliche Zellzuflufs wieder ein, und es kann natürlich alle Übergänge zwischen starker und fehlender Leukozytose in der Bauchhöhle, je nach dem Grade der Aggressinwirkung geben.

Es ist klar, dafs die erste der erwähnten Aggressineigenschaften, das Tödlichwerden untertödlicher Bazillenmengen in dieser leukozytenabhaltenden Wirkung unmittelbar ihre Ursache haben kann. Denn an der Bedeutung der Leukozyten, die als Phagozyten einen wesentlichen Schutz für den Körper eines Tieres bedeuten müssen, kann nach den Ergebnissen so zahlreicher Versuche nicht gezweifelt werden. Ebenso erklärt sich sofort die zweite Eigenschaft des Aggressins, die Verschiedenheit des Todesbefundes bei mit und ohne Aggressin durch Bazillen

getöteten Tieren. Denn das Bild der schweren Infektion im IV. Pfeifferschen Stadium ist ja nur durch die Zellarmut der Bauchhöhle veranlafst.

Für Typhus könnte schliefslich auch bei der dritten Aggressinwirkung, dem Immunserum gegenüber, das Fernbleiben der Leukozyten von Bedeutung sein. Es ist längst bekannt, dafs das bakterizide Serum Typhusbazillen nur langsam im Vergleich zu Vibrionen zerstört und wenn die verwendete Serummenge nicht allzugrofs war, kann man 3 und selbst 5 Stunden nach der Einspritzung wohl erhaltene Bazillen finden. Gar nicht selten liegen diese dann in Ketten, welche erst im Tierkörper selbst entstanden, also trotz aller Bakterizidie gewachsen sein müssen. Es wäre nicht undenkbar, dafs solche widerstandsfähige Stäbchen erst durch Phagozyten, die ja schon nach ungefähr 2 Stunden eintreffen, aufgenommen und unschädlich gemacht werden müssen, damit der Pfeiffersche Versuch mit geringeren Mengen von Typhusserum überhaupt gelingt. Bleibt die Phagozytose infolge des Agressins aus, so könnte eine Vermehrung der inzwischen auf den »tierischen Zustand« gelangten Bazillen die Folge sein. Solche auch in künstlicher Zucht vorhandene widerstandsfähige Bakterien könnten überhaupt eine Art Übergang zu dem Zustand bilden, den alle Stäbchen im Exsudate annehmen. Natürlich sind das nur Vermutungen, die sich aber unwillkürlich bei Anstellung eines Pfeifferschen Versuches mit Typhus aufdrängen.

Für alle Fälle der Typhusinfektion mit Immunserum reicht indessen diese Erklärung nicht aus und ganz unzulänglich ist sie für Cholera. Hier ist die Bakteriolyse zu einer Zeit vollständig beendet, wo von einem wesentlichen Leukozytenzuflufs, auch ohne Aggressin, nicht die Rede sein kann, oft genug ist auch die Zahl der noch vorhandenen Granula sehr gering. Es kann daher an eine Beseitigung lebend gebliebener Vibrionen kaum gedacht werden und nachträgliche Vermehrung tritt ja auch meist nicht auf.[1]) Wenn hier das Fernhalten von Leuko-

1) Vgl. übrigens die Darlegungen Kikuchis, betreffend Dysenteriebazillen.

zyten durch das Aggressin überhaupt eine Bedeutung haben soll, so könnte sie bei der anscheinenden Vergiftung nur in einer Beziehung von Gift und Leukozyten bestehen. Metschnikoff, Besredka, Marie u. a. haben eine solche bereits angenommen und Versuche von Kikuchi mit Ruhrgift, das von der Blutbahn und auch von der Haut aus stärker wirkt als von der Brusthöhle, lassen sich ebenfalls kaum anders deuten. Für Cholera liegt die Schwierigkeit vor, dafs das fragliche Gift noch nicht fafsbar ist. Würde es, wie oben vermutungsweise angedeutet ist, erst durch das Zusammentreten der aufgelösten Vibrionen mit einem im Aggressin enthaltenen Halbgifte entstehen, so könnte die Abhaltung von Leukozyten als eine mehr nebensächliche Erscheinung gelten. Anders wäre es, wenn die unter dem Einflusse des Immunserums aufgelöste Öse voll Vibrionen schon genug Gift zur Tötung eines Meerschweinchens enthielte, dieses Gift bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung aber nur darum nicht wirken könnte, weil es von den in kurzer Zeit massenhaft auftretenden Leukozyten in irgendeiner Weise verändert oder zerstört wird. Dann wäre das Fernbleiben der Leukozyten die Vorbedingung der Vergiftung. Für die letztere Vermutung würde sprechen, dafs es auch bei gröfster Vorsicht nicht gelingt, mit gröfseren, aber noch nicht tödlichen Mengen von lebenden Vibrionen zu immunisieren. Solche Tiere sterben früher oder später mit höchster Abmagerung, so dafs schon kleinere als tödliche Vibrionenmengen genug Gift, allerdings von langsamer Wirkung enthalten müssen. Es wäre dann diejenige Zahl von Vibrionen, welche gerade genügt, um das ursprüngliche III. Stadium Peiffers mit Keimfreiheit oder grofser Keimarmut der Bauchhöhle hervorzurufen, das kleinste Mafs des noch rasch tötenden Giftes. Für die Wichtigkeit der leukozytenabhaltenden Eigenschaft spricht ferner die Erscheinung, dafs Meerschweinchen, die mit Aggressin vorbehandelt sind, trotz Einspritzung von Aggressin und Bazillen starke Leukozytose der Bauchhöhle aufweisen und am Leben bleiben.

Tabelle XLVIII.

Das Meerschweinchen J 3 ist mit mehrfachen Einspritzungen von Typhusaggressin unter die Haut vorbehandelt; das andere ist normal. Das Aggressin stammt vom Typhustier 155 (s. Tab. XXXI).

Meerschweinchen 158	Meerschweinchen J 3
erhält 0,08 ccm Serum »Edgar«, gleich darauf 1 Öse Typhuskultur + 2 ccm Aggressin in die Bauchhöhle.	wie Nr. 58 ohne Serum geimpft.
Nach $^1/_2$ Std. fast keine Leukozyten; Typhusbazillen zahlreich, alle unbeweglich, ein Teil gequollen, viele Granula.	Nach $^1/_2$ Std. wenig rote, verhältnismäfsig viele, meist kleine, aber auch grofse polynukleäre Zellen. Weder Bazillen noch Körnchen.
Nach 1 Std. keine Leukozyten; normale bewegliche und unbewegliche, gequollene Bazillen und Körnchen durcheinander in grofser Zahl.	Nach 1 Std. starke Zunahme der Leukozyten, vorwiegend durch kleine polynukleäre bedingt.
Nach $1^1/_2$ Std. Vereinzelte kleine Leukozyten. Normale Bazillen bereits in Überzahl, aber noch viel Quellungserscheinungen und Körnchen.	Nach $1^1/_2$ Std. Exsudat bereits für das blofse Auge trüb; massenhaft Leukozyten, meist einzeln liegend und pseudopodienführend.
Nach $2^1/_2$ Std. Leukozyten etwas vermehrt, aber ohne Vergleich gegen Meerschweinchen 73. Neben vielen Bazillen noch Körnchen zu finden.	Nach $2^1/_2$ Std. Reiner Eiter mit vielen Makrophagen und grofsen polynukleären Zellen.
Nach $5^1/_2$ Std. Wenige Leukozyten und diese meist verklumpt. Wimmelnde Bazillen.	Nach $5^1/_2$ Std. Dicker Eiter.
Das Tier stirbt nach genau 12 Std. mit dem Bilde schwerer Infektion.	Das Tier hat weder Krankheit noch Abmagerung gezeigt.

Tabelle XLIX.

Das Meerschweinchen J 4 ist mit Einspritzungen von Typhusaggressin unter die Haut vorbehandelt; das andere ist normal. Tierische, in gewöhnlicher Weise gewonnene und gewaschene Bazillen aus Meerschweinchen 224.

Meerschweinchen 225	Meerschweinchen J 4
erhält 0,1 ccm Serum »Edgar« + tierische Bazillen ip. Letztere entsprechen $^1/_8$ Öse Kulturbazillen an Menge und waren dem Serum $^1/_4$ Std. vor der Einspritzung zugesetzt worden.	wie Nr. 225 ohne Serum geimpft.
Nach 20 Min. Bazillen sehr zahlreich, normal aber unbeweglich, keine Leukozyten.	Nach 20 Min. ist die Bazillenzahl bereits vermindert, ohne dafs Granula od. sonstige Entartungserscheinungen vorhanden wären. Die vorhandenen Bazillen sind durchaus normal. Leukozyten treten auf.

Nach 40 Min. Vermehrung der normal aussehenden Bazillen, aber auch Quellungsstadien. Keine Leukozyten.	Nach 40 Min. Leukozyten haben nicht weiter zugenommen, dagegen sind mehr Bazillen als früher zu sehen.
Nach 60 Min. Spärliche Leukozyten; fortschreitende Vermehrung der unbeweglichen, sonst normalen Bazillen.	Nach 60 Min. Starke Zunahme von Leukozyten, die z. T. in Haufen beisammenliegen, ansehnliche Phagozytose. Bazillen wie vorher.
Nach 3 Std. Im Tropfen wimmelnde Bazillen, ganz vereinzelte Leukozyten.	Nach 3 Std. Sehr zahlreiche, oft noch verklumpte Leukozyten. Bazillen stark vermindert, hie und da mit Quellungserscheinungen.
Nach 6 Std. Vermehrte, aber immer noch spärliche Leukozyten, zum Teil als Phagozyten wirkend. Bazillen wimmelnd, dicht gedrängt.	Nach 6 Std. Eitriges Exsudat, ohne Bazillen, ohne Phagozytose, ohne Körnchen. Am anderen Morgen enthält die Bauchhöhle des deutlich kranken Tieres reinen Eiter.
Das Tier stirbt in der Nacht mit dem Bilde schwerster Infektion.	Das Tier magert eine Woche lang ab, erholt sich dann rasch.

Tabelle L.

Das Meerschweinchen J 5 ist wie J 3 und J 4 vorbehandelt, das andere ist normal. Zur Infektion wird das Exsudat eines Typhusmeerschweinchens Nr. 228 verwendet, das solange zentrifugiert wird, bis die rückbleibende, nur durch Bazillen veranlaſste Trübung der von einer 20 Std. alten Bouillonkultur entspricht.

Meerschweinchen 229	Meerschweinchen J 5
erhält 0,25 ccm Serum »Edgar«, gleich darauf 1 ccm Exsudat 228 ip.	wie Nr. 229 ohne Serum geimpft.
Die Bazillen vermehren sich sofort, ohne Degenerationserscheinungen aufzuweisen. Nach 2 Std. treten reichlich Leukozyten auf, deren Zahl aber nicht weiter zunimmt und nach 5 und 6 Std. sinkt. Phagozytose bleibt auſserordentlich schwach.	Die Bazillen halten sich ohne Degenerationserscheinungen, ohne Abnahme ihrer Zahl 4 Std. lang. Erst nach 5 und 6 Std. nimmt ihre Zahl rasch ab. Leukozyten treten bereits nach $^1/_2$ Std. auf und vermehren sich unter geringer Haufenbildung fortgesetzt. Nach 4, 5 und 6 Std. ist das Exsudat dick eitrig.
Das Tier stirbt in der Nacht mit dem Bilde mittelschwerer Infektion. Die mäſsig reichlichen Eiterauflagerungen auf der Leber zeigen in ihren groſsen polynukleären Zellen stärkste Granulaphagozytose.	Das Tier war am Abend deutlich krank, erholte sich aber schon am folgenden Tage ganz und magerte nur wenig ab.

traf nicht zu, im Gegenteile waren gerade die Exsudate des IV. Pfeifferschen Stadiums am öftesten aggressinarm, ein Befund, der übrigens durchaus nicht gegen die Annahme eines Zusammenhanges von Virulenz und Aggressivität spricht. Denn eigene aggressive Wirkung eines Bazillus und Anhäufung dieser in einer Bauchhöhlenflüssigkeit müssen keineswegs zusammentreffen. Es kann sehr wohl eine solche Anhäufung gerade dort stattfinden, wo sich der Vibrio gegen bereits angesammelte oder rasch eintretende Zellen zu wehren hat. Wirklich waren Exsudate aus Choleratieren des III. Pfeifferschen Stadiums in der Mehrzahl der Fälle besser als solche des IV. Stadiums, und es gelang auch ein dahinzielender, vergleichender Versuch.

Tabelle LII.

Bereits teilweise in Tabelle XLVI verzeichnete Tiere. Verwendet wurde das Exsudat eines Tieres 133, dss nach Einspritzung von einer virulenten Choleraagarkultur in die Bauchhöhle nnter dem Bilde schwerer Infektion gestorhen war, und das von 134, das 24 Std. vor der Cholera 4 ccm Bouillon erhalten hatte. Die Exsudate waren mit Asbestpnlver zentrifugiert und es ergaben 0,1 ccm von Exsudat 133 : 2030, von 134 : 89 Kolonien. Zur Infektion diente eine dichttrübe Aufschwemmung von gewaschenen Choleravihrionen ans dem Exsudate von 133. Es erhielten die Aggressintiere 135—139 davon je 4, die Kontrolltiere 140 und 141 sowie 139 je 5 Tropfen.

Nr.	Serum	Bazillen	Tot	Bemerkungen
135	0,001 ccm Serum »Pfeiffer« ip.	nach $^1/_2$ Std. 0,75 ccm Aggressin 133 + 4 Tropfen Bazilien	—	Die erste Entnahme des Exsudats ergab eine Darmverletznng. Das Tier lehte ohne Krankbeit, aber mit vorühergehender Ahmagerung.
136	wie 135	wie 135 mit 2,25 ccm Aggressin 133	nach 9 Tag.	Nach 1 Std. vollständiger Körncheuzerfall. Das Tier magert rasch ab nnd stirht in höchster Abzehrung.
137	wie 135	wie 135 mit 0,75 ccm Aggressin 134	—	
138	wie 135	wie 135 mit 2,25 ccm Aggressin 134	10 Std.	
139	wie 135	wie 138, aher das Aggressin $^1/_2$ Std. auf 56—60° erwärmt	—	s. Tabelle XLVI.
140	wie 135	wie 138 mit NaCl-Lösung	—	
141	—	wie 140	in der Nacht	

Andere Versuche gelangen nicht in gleicher Weise, und es läfst sich daher vorläufig nur aussagen, dafs bei Choleravibrionen wahrscheinlich zellreiche Exsudate auch am besten aggressiv wirken.

C. Weitere Ausblicke.

Wer es unternimmt, die Bakteriolyse als zureichende Ursache wahrer Immunität zu leugnen, der wird sich früher oder später nicht der Pflicht entziehen können, zu sagen, was die Bakteriolyse denn eigentlich bedeutet, und was unter einer wahren Immunität zu verstehen sei. Beides soll nunmehr versucht werden, allerdings meist auf Grund von Erwägungen, die nur zum kleinen Teil durch Versuche gestützt werden können, und die mehr einen Arbeitsplan für künftige Untersuchungen als ein abgeschlossenes System bedeuten. Dabei ist es begreiflich, dafs sich die Ausführungen auf Cholera und Typhus allein nicht beschränken können.

Es läfst sich nämlich schon jetzt mit grofser Wahrscheinlichkeit annehmen, dafs das Vorhandensein von aggressiven Eigenschaften sich bei allen krankheitserregenden Bakterien und vielleicht auch noch über sie hinaus, nachweisen läfst, wie dies ja im Sinne der ersten Darlegungen Kruses und der ähnlichen von Deutsch liegt. Bei anscheinend so verschiedenartigen Krankheitsvorgängen, wie sie durch die Erreger des Milzbrandes, der Cholera und des Typhus, der Hühnercholera (Weil), der Ruhr (Kikuchi) und wohl auch der Tuberkulose erzeugt werden, spielt die Aggressivität der Bakterien eine Rolle. In den Einzelheiten mannigfach abweichend, bleibt ihr Grundzug in gewissen Merkmalen der gleiche. Man kann es daher versuchen, hier einen festen Punkt zu finden, von dem aus sich die Möglichkeit des Krankwerdens wie die Unmöglichkeit desselben durch Immunität einheitlich übersehen läfst.

Dann ist es zunächst erforderlich, die Eigentümlichkeit der Krankheitsentstehung mit der Eigenart der Krankheitserreger in Beziehung zu bringen, mit anderen Worten, die Bakterien in bezug auf ihr Verhalten zum lebenden, gesunden Tiere richtig

in Gruppen einzuteilen. Wenn nicht von Anfang an eine unübersehbare Verwirrung geschaffen werden soll, so ist es notwendig, bei dieser Einteilung immer nur eine bestimmte Tierart im Auge zu behalten, eine Notwendigkeit, die sich übrigens von selbst ergibt. Dann lassen sich unterscheiden: 1. Echt invasive, parasitische Bakterien, welche im natürlichen, nicht durch künstliche Züchtung u. dgl. veränderten Zustande, schon in der geringsten Menge in den normalen Tierkörper eingebracht, sich daselbst unter allen Umständen halten und vermehren können. Für das Meerschweinchen würde z. B. der Milzbrandbazillus hierher zu rechnen sein. 2. Halb- oder fakultativ invasive Parasiten, deren Haftenbleiben und Vermehrung im normalen Tiere nur durch besondere Verhältnisse ermöglicht wird, wobei diese Verhältnisse sehr verschiedener Art sein können. Meist handelt es sich dabei um Zahl der Bazillen, Ort ihres Eindringens u. dgl. 3. Reine Saprophyten, welche nicht die Fähigkeit haben, sich im normalen Tierkörper dauernd zu halten und zu vermehren.

Besonderes Gewicht ist auf die Verwendung des normalen Tieres zu legen. Dadurch ist ausgeschlossen, dafs z. B. durch schlechte Ernährung, Fortpflanzungsgeschäfte, grofse Jugend oder hohes Alter u. dgl. veränderte Tiere verwendet werden, aber ebenso, dafs künstliche Mittel das Tier erst im Augenblicke der Bazilleneinführung abnormal machen, wie es z. B. bei Milchsäure und Tetanussporeneinspritzung oder Typhus und Typhusaggressineinführung der Fall wäre. Weiter ist die Wichtigkeit der selbständigen und andauernden Vermehrung zu betonen: sie kann gering sein, aber sie mufs erfolgen. Dadurch ist ein Hinweis auf Veränderungen, die auch durch reine Saprophyten veranlafst werden, beseitigt, denn es wird wohl kaum einen Bazillus auf der Erde geben, der nicht in hinreichender Menge, das was man als Krankheit bezeichnen könnte, machen würde. Schon verhältnismäfsig geringe Mengen harmloser Bakterien können ein Auge zerstören[1]), gröfsere einen Abszefs unter der Haut oder eine tödliche Entzündung in der Bauchhöhle veranlassen. Dabei aber hat die Eiterung, die hier auftritt, nicht

1) Ulbrich, Gräfes Archiv f. Ophthalmologie, Bd. 58, Nr. 2.

so sehr den Wert einer Krankheitserscheinung, sondern einer Abwehrmafsregel, die ins Mafslose und damit Zweckwidrige gesteigert ist. Das gröfste Interesse von diesen drei Gruppen besitzt die der Halbparasiten; denn auch unter Einhaltung der erwähnten Beschränkungen ist ihre Grenze nur gegen die erste, nicht gegen die dritte Gruppe eine scharfe, wie es ja bei einem Übergange nicht anders sein kann. Für Meerschweinchen gehören hierher die meisten der als Krankheitserreger beschriebenen Bakterien: die ausgesprochenen Giftbildner, die entweder von vornherein in gröfserer Zahl eingebracht werden müssen wie Diphtheriebazillen oder in besonderer Form wie Tetanusbazillen, die als Sporen nicht auskeimen, wenn nicht durch Leukozytenabhaltung der normale Zustand der Tiere verändert wird. Hierher gehören auch Typhusbazillen und Choleravibrionen. Für beide ist eine bestimmte kleinste Bakterienzahl notwendig, um bei einer bestimmten Impfart, der in die Bauchhöhle, Krankheit hervorzurufen. Geht man unter diese herunter, so fehlt das Vermehrungsvermögen und sie sind für das Tier nur Saprophyten. Ebenso wenn nicht allzugrofse Mengen unter die Haut eingeführt werden, wo nur Eiterung als Abwehrmafsregel eintritt, keine allgemeine Krankheit. Schliefslich beweist die grofse Unsicherheit einer Einspritzung in die Blutbahn dasselbe. Dabei tritt aber bei Vergleich von Typhus und Cholera hervor, dafs letztere den Saprophyten weit näher steht als erstere. Die Schwierigkeit, die Zahl der zur Tötung nötigen Vibrionen unter ein gewisses kleinstes Mafs herabzudrücken, das aufserordentlich rasche Verschwinden kleiner Mengen aus dem Körper, die Unfähigkeit, aus der Blutbahn in Organe überzutreten, das alles deutet darauf hin.

Von grofser Wichtigkeit ist es, den Grund zu wissen, weshalb sich Saprophyten und ihnen entsprechende Halbparasiten nicht im Tierkörper zu halten vermögen, warum Parasiten unter allen, Halbparasiten unter bestimmten Bedingungen dazu imstande sind. Ersteres ist bedingt durch antibakterielle Eigenschaften des tierischen Körpers, letzteres durch die aggressiven Fähigkeiten der Parasiten, welche zunächst nur die Aufgabe haben, diese zu überwinden.

Von antibakteriellen Wirkungen des Körpers können zurzeit zwei geuannt werden: eine allgemein und überall wirksame, gegeben durch die Beweglichkeit, Aufnahme und Verdauungsfähigkeit von Körperzellen, die Phagozytose und eine nur unter besonderen Umständen mögliche, die Bakterizidie der Körpersäfte. Beide können einzeln für sich und gemeinsam tätig sein: nur Phagozytose kann Bazilleu zerstören, die in Organe, wohl auch unter die Haut eingebracht wurden, blofse Bakterizidie kann für empfindliche Bakterien in den grofsen Blutgefäfsen oder in der Bauchhöhle ausreichen, die übrigens auch der Ort ist, wo beide Wirkungen vereint sein können. Dabei kann die Phagozytose gesteigert werden durch Art und Zahl der Zellen, nicht aber die Bakterizidie. Wie der Metschnikoffsche Versuch zeigt, kann auch eine Aufhebung derselben durch die blofse Anwesenheit der Phagozyten erfolgen.

Besitzt ein Bazillus die aggressive Fähigkeit, sich der antibakteriellen Körperkräfte zu erwehren, in so hohem Grade, dafs schon wenige oder einzelne Individuen imstande siud, die Phagozytose zu vermeiden, so ist er ein echter Parasit. Kann erst durch eine gröfsere Zahl von Bakterieu die nötige Aggressivität aufgebracht werden, so handelt es sich um eiuen Halbparasiten, und es ist von vornherein klar, wie viele Abstufungen da möglich sind. Die Erfahrung, dafs von einem bestimmten Stamme von Halbparasiten desto weniger Individuen erforderlich sind, je öfter derselbe im Tierkörper verweilen konnte, weist darauf hin, dafs die Aggressivität eines Bazillus einer Steigerung fähig ist; die andere Erfahrung, dafs auch unzweifelhafte Parasiteu durch künstliche Züchtung u. dgl. zu Halbparasiten oder sogar zu blofsen Saprophyten werden können, beweist die umgekehrte Möglichkeit. Es steht somit, in Übereinstimmung mit Deutsch, die Aggressivität zur Virulenz in den allerengsten Beziehungen. Einer weiteren Schlufsfolgerung darf man sich bei dieser Vorstellungsweise nicht entzieheu: es erscheint möglich, dafs ein Halbparasit zum echten Parasiten, aber auch, dafs ein reiner Saprophyt Halbparasit und damit erst Krankheitserreger werden kann. Ob letzteres heutzutage wirklich vorkommt, d. h. ob neue

Infektionskrankheiten bei Tieren oder Menschen entstehen, mag fraglich bleiben; dafs sich im Versuche derartiges ermöglichen läfst, kann bereits jetzt mit gröfster Wahrscheinlichkeit ausgesagt werden.

Wenn Aggressivität die unerläfsliche Vorbedingung ist, damit ein Bazillus überhaupt eine Krankheit durch seine Vermehrung im Körper eines normalen Tieres hervorrufe, so läfst sich leicht folgern, dafs Krankheitsentstehung unmöglich wird, sobald die Aggressivität der Bazillen nicht mehr zur Geltung gelangen kann. Es braucht dabei nicht erst immer wiederholt zu werden, dafs auf Begleitumstände geachtet werden mufs. Handelt es sich z. B. um einen echten Parasiten, der wie der Milzbrandbazillus beim Meerschweinchen in einem Individuum Krankheit und Tod erzeugt, und wird ihm durch irgendwelche Vorbehandlung von Meerschweinchen die Möglichkeit genommen, schon mit einem Individuum die hinreichende Aggressivität zu entfalten, so ist er für ein solches Tier zum Halbparasiten geworden; als solcher vermag er erst in einer gröfseren Anzahl leicht wieder Milzbrand zu erzeugen; ähnliche Erwägungen gelten auch ohne besonderen Hinweis für die meisten Fälle.

Da man nun die Unmöglichkeit einer Krankheitsentstehung durch bestimmte Bazillen Immunität nennt, so wird ihre Ursache in der versagenden Aggressivität der betreffenden Bazillen gelegen sein. Alle Vorgänge im Tierkörper, welche darauf hinarbeiten, dieses Versagen herbeizuführen, gehören zur erfolgreichen Immunisierung des Tieres. Die Bazillen selbst sind dabei in gewissem Grade nebensächlich; denn in dem Augenblicke, wo sie im Tiere gar nicht mehr aggressiv wirken können, sind sie für dasselbe zu blofsen Saprophyten geworden, mit denen erfahrungsgemäfs der Körper leicht fertig wird.

Eine von diesen Anschauungen ausgehende Immunisierung mufs die aggressive Wirkung des Bazillus in den Tierkörper hineinzubringen suchen. Das ist nur in zweierlei Weise möglich, wie sich an der Hand des Beispieles eines echten Parasiten am leichtesten zeigen läfst. Entweder man nimmt dem Parasiten einen Teil seiner Aggressivität, so dafs er zum Halbparasiten wird,

impft damit in geeigneter Weise das Tier und läfst so die Aggressivität von selbst entstehen. Das ist die Grundlage der Pasteurschen Schutzimpfung mittels abgeschwächter Kulturen. Der echt parasitische Milzbrandbazillus wird durch Züchtung bei 42° u. dgl. zum Halbparasiten, der im Körper eines Schafes z. B. zwar noch aggressiv wirkt, aber nicht hinreichend, um unbeschränkte Vermehrung der Bazillen und damit Tod hervorzurufen; die geringe Menge des entstandenen Aggressins (körperlich gesprochen) reicht aber zur Bildung antiaggressiver Fähigkeiten aus. War die Züchtung bei 42° zu lange ausgedehnt, so wurde der Parasit zum blofsen Saprophyten, der gar keine aggressiven Eigenschaften mehr hat und nicht immunisierend wirken kann. Das antiaggressive Vermögen eines erfolgreich immunisierten Tieres bewirkt dann eine Verschiebung der Stellung des Bazillus in den erwähnten drei Gruppen. Für ein hochimmunes Tier kann der als echter Parasit eingebrachte Milzbrandbazillus zum reinen Saprophyten oder zum Halbparasiten werden; im ersten Falle verträgt es beliebige, im zweiten begrenzte Mengen von Bazillen ohne Schaden. Bei der Immunisierung von gewissen Tieren, Mäusen und namentlich Meerschweinchen, scheint es überhaupt nur möglich zu sein, den Milzbrand zum Halbparasiten werden zu lassen; denn selbst sorgfältigst vorbehandelte Tiere vertragen nur eine gewisse Zahl von Bazillen.

Der zweite Weg einer erfolgreichen Immunisierung besteht darin, dafs man die aggressiven Eigenschaften eines Bazillus von ihm getrennt zu erhalten versucht und den Tieren beibringt. Der Unterschied gegen die Pasteursche Methode liegt nur in der Art, nicht im Wesen des Vorgehens. Die Milzbrandimmunisierung mittels Ödems, die Immunisierung gegen Hühnercholera von Weil sind Beispiele derartiger »Aggressinimmunität« gegen echte Parasiten. Es kann schliefslich auch gelingen, die antiaggressiven Eigenschaften eines Tieres mit seinem Serum auf ein zweites zu übertragen, was sowohl nach Vorbehandlung der Tiere auf die erste Art (Sobernheim), wie auf die zweite möglich ist.

Dieselben Erwägungen gelten im ganzen auch für die Immunisierung gegen Halbparasiten, wie Typhus und Cholera u. a.

Nur ist hier aufser den aus dem Begriffe selbst hervorgehenden Besonderheiten noch ein Punkt zu berücksichtigen. Es ist aufserordentlich merkwürdig, dafs bei den bisher in dieser Hinsicht untersuchten echten Parasiten, dem Milzbrand und der Hühnercholera, Gifte gar keine Rolle zu spielen scheinen und nicht zu finden sind. Das wird vielleicht als weiteres gemeinsames Merkmal für alle Parasiten angeführt werden müssen, da sie ja nicht zahlreich sind und in zwei so verschiedenen Vertretern genau übereinstimmen. Im Gegensatze dazu tritt bei den Halbsaprophyten die Giftwirkung vielleicht immer, wenn auch in verschiedenem Grade, hervor, sei es, dafs es sich um gelöste Gifte handelt, wie bei Diphtherie, Tetanus und Ruhr (Kikuchi), sei es, dafs die Bazillen selbst giftig sind. Die Vergiftung kann dabei das Bild der Infektion so vollständig beherrschen, dafs auch die Immunisierung nur gegen das Toxin gerichtet wird. Es ist der Hervorhebung wert, dafs bei Aggressinimmunisierung ohne jede Giftbeteiligung, wie bei den antitoxischen mit herrschender Giftwirkung die Bazillen selbst, als etwas zwar Notwendiges, aber nicht für die Sache Wesentliches aufser acht gelassen werden können. Wird aber bei Halbparasiten, namentlich Typhus und Cholera, die einmal erzeugte Krankheit hauptsächlich als Vergiftung aufgefafst, wie dies allgemein geschieht, so würde auch die Immunität gegen die Krankheit, wenn nicht ganz, so doch zum Teil antitoxisch sein. Kein geringerer als Pfeiffer selbst hat aber das Fehlen der Antitoxizität immer wieder für die bakterizide Immunität hervorgehoben. Wenn dann dieser Immunität auch ein antiaggressiver Bestandteil fehlt, jener Bestandteil, der erst die Unmöglichkeit der Krankheitsentstehung bedingt, so kann es sich wirklich nur um eine scheinbare Immunität, die gegen den Krankheitserreger, aber nicht gegen die Krankheit selbst handeln.

Beides mufs streng auseinandergehalten werden, was, wie die folgende Darstellung zeigt, möglich ist. Als Beispiel sei die fast allgemein übliche Art angeführt, wie ein Kaninchen gegen Cholera behandelt wird, um bakterizide Immunität und ein bakterizides Serum zu bekommen. Dabei soll zunächst die

Anwendung lebender Vibrionen berücksichtigt werden. Um Abmagerungen durch Abszefsbildung oder Verluste durch Darmverwachsung u. dgl. zu vermeiden, schliefst man bekanntlich die Einführung der Vibrionen unter die Haut oder in die Bauchhöhle aus und wählt die in die Blutbahn. Erfahrungsgemäfs mufs man mit verhältnismäfsig kleinen Vibrionenmengen beginnen, wenn man nicht gleich zu Anfang grofse Verluste beklagen will. Was mit den Vibrionen geschieht, lehren die früher angeführten Versuche. Binnen kürzester Zeit sind sie im Blute vernichtet, ohne auch nur in Organe übertreten zu können. Wirklich cholerakrank wird das Tier nicht: die eingespritzten Vibrionen verhalten sich zum normalen Tiere wie reine Saprophyten, infolge ihrer geringen Zahl unfähig, auch nur einen Teil jener Aggressivität aufzubringen, die nötig wäre, sich im Körper halten zu können. Steigt nun die bakterizide Serumkraft des Kaninchens an (wie das geschieht, ist für die zu erörternde Frage nebensächlich), so ist das Tier kein normales mehr.

Eine in die Blutbahn eingeführte Vibrionenmenge, die vielleicht schon für ein unbehandeltes Kaninchen genug Aggressivität aufbringen könnte, um Halbparasiten zu sein, ist für dieses Tier noch in der Verfassung des reinen Saprophytismus und verschwindet schnellstens, so wie die früheren aus dem Blute, ohne etwas anderes als gesteigerte Bakterizidie hervorbringen zu können. So geht das fort, bis schliefslich eine weitere Steigerung der Vibrionenmenge infolge von Vergiftungserscheinungen unmöglich wird. Was dabei aufser der Bakterizidie höchstens noch entstehen kann, ist eine geringe Antitoxizität, die wahrscheinlich keinem Choleraserum ganz fehlt, da die Giftigkeit der Vibrionen höher sein dürfte, als sich aus Versuchen mit abgetöteten ergibt. Es braucht nur wenig an diesem Gedankengange geändert zu werden, um sich auch die Immunisierung mit toten Vibrionen, die von der Bauchhöhle bei Meerschweinchen aus usw. in gleicher Weise zu erklären. Cholerakrank sind alle solchen Tiere nie gewesen, denn die Vibrionen, die sie erhielten, waren für sie nie etwas anderes als Saprophyten, die bestenfalls giftig wirken konnten: der Krankheitserreger wurde

als solcher nie in den Körper gebracht. Deshalb entwickelte sich auch nur jene Bakterizidie, die mehr oder minder leicht von jedem Bazillus hervorgebracht werden kann, selbst dann, wenn er wegen seiner Temperaturanforderungen gar nicht im Tierkörper haften kann: nur auflösen muſs ihn der Organismus von vornherein können, damit nicht wie bei den Hefen, alle Arbeit den Leukozyten allein überlassen bleibt (Schattenfroh, Malvoz u. a.). Derartige Verhältnisse sind gemeint, wenn der Satz noch einmal betont wird, daſs Immunität gegen Krankheitserreger (sc. die nie als solche eingespritzt werden) nicht Immunität gegen Krankheit bedeutet.

Die Tatsache, daſs man mit völlig avirulent gewordenen Cholerakulturen, die also reine Saprophyten sind, noch bakterizide Immunität und bakteriolytische Sera erhalten kann, ist bei dieser Erklärungsweise sofort verständlich.

Es läſst sich aber auch zeigen, daſs echte Parasiten, wie der Milzbrandbazillus, sich ähnlich wie etwa Typhusbazillen verhalten können. Bekanntlich besitzen Sera von hohem Schutzwerte, wie das Sobernheimsche und das durch Vorbehandlung von Tieren mit Milzbrandödem erzeugte, keine agglutinierenden und bakteriziden Fähigkeiten. Behandelt man aber Kaninchen und gröſsere Meerschweinchen längere Zeit mit bei 42° gewachsenen und dann vorsichtig abgetöteten Milzbrandagarkulturen intravenös oder intraperitoneal, so liefern die Tiere Sera, welche ganz deutlich, wenn auch nicht sehr stark agglutinieren (bei Kaninchen bis zur Verdünnung 1 : 500). Überdies ist der Immunkörpergehalt im Reagensglasversuch um das ungefähr Dreifache gestiegen. Schutzwert hatte ein solches Serum für Kaninchen, selbst bei gleichzeitiger Einspritzung mit Bazillen, keinen und das blutliefernde Tier selbst erlag einer Einführung von weniger als 1000 Bazillen unter die Haut in drei Tagen.

Wenn daher Carini[1]) gegen Sobernheim die agglutinierende Eigenschaft seines Milzbrandserums betont, so beweist dies nicht das geringste. Hätte Sobernheim seine Immunisierungen

1) Deutsche mediz. Wochenschrift, 1904, Nr. 33.

mit einer längeren, aber ganz zwecklosen Anwendung toter oder völlig abgeschwächter Kulturen begonnen, ehe er die wirksame Kultur anwendete, so würde wahrscheinlich auch sein Serum agglutiniert haben; ein höherer Schutzwert, der auf ganz andere Weise zustande kommt, wäre damit nicht erzielt worden.

Bei Typhusbazillen, die bereits den echten Parasiten näher als den Saprophyten stehen, die namentlich schon leichter in Organe vordringen können, wird die Sachlage vermutlich etwas anders sein; es ist sehr bezeichnend, dafs die Immunisierung gegen Typhus weit mehr als mit lebenden, mit toten Bazillen durchgeführt wird, die sozusagen noch unter den Stand der blofsen Saprophyten herabgedrückte Krankheitserreger sind.

Es soll nicht einen Augenblick geleugnet werden, dafs die Tatsache der gesteigerten Bakterizidie auch biologisch von Interesse und Bedeutung ist. Mag man sie sich nun als gesteigerte Bildung von Stoffen verwickelter Bauart uach Ehrlichs Theorie vorstellen oder als Änderung des physikalisch-chemischen Zustandes der Körperflüssigkeiten, bewirkt durch die fortgesetzte Zufuhr gelöster oder löslich gemachter körperfremder Kolloide, die Tatsache, dafs neue Stoffe oder solche Zustandsänderungen auftreten können, ist wichtig, auch wenn die Bakteriolyse und die damit mehr weniger locker zusammenhängeude Agglutination und Präzipitation im Tierkörper in der Regel nicht auftritt und keine Beziehung zur Immunität hat. Die Spezifität, mindestens in quantitativer Hinsicht, die all diesen Erscheinungen anhaftet, erhöht noch ihren Reiz. Aber die Antwort auf die Frage nach dem Wesen der Immunität ist hier nicht zu finden.

Versucht man es, Tiere mit Mengen von Vibrionen zu immunisieren, welche den tödlichen naheliegen, bei denen man also annehmen darf, dafs sie Aggressivität genug entwickeln, um die offenbar so wichtigen Leukozyten mindestens eine Zeitlang abzuhalten und selbst solange am Leben zu bleiben oder sich gar etwas zu vermehren, so wird man bald die übelsten Erfahrungen machen. Wenn sich die Tiere überhaupt erholen, so erliegen sie einer zweiten gesteigerten Einspritzung fast stets, seltener und namentlich Meerschweinchen durch Vermehrung

der Vibrionen, meistens durch Vergiftung, die entweder rasch oder sehr langsam mit höchstgradiger Abmagerung wirkt.

Ein derartiges Vorgehen ist aber nichts anderes als die von den echten Parasiten übernommene und den Charakteren der Halbparasiten angepafste Pasteursche Methode der Immunisierung. Wenn sie bei diesen, wohl wegen der Sonderheit der giftigen Eigenschaften nicht anwendbar ist, so bleibt nur übrig, auf die Bakterien mehr weniger zu verzichten und eine reine Aggressinimmunität herzustellen, die vermutlich auch antitoxisch sein wird.

Die bisherigen Versuche haben ergeben, dafs auch das nicht leicht ist, ein nebensächlicher Umstand, wenn es nur gelingt, eine wahre Immunität zu erzielen.

Nachsatz zur Korrektur. Während des Druckes erschienen zwei Arbeiten, die zum Gegenstande der vorliegenden Mitteilung in Beziehung stehen oder zu stehen scheinen: Wolff: Über Grundgesetze der Immunität (Centralblatt für Bakteriologie, I. Abt., Bd. 37), sowie Pfeiffer und Friedberger: Über antibakteriolytische Substanzen normaler Sera (Deutsche mediz. Wochenschrift, 1905, Nr. 1). Sie konnten nicht mehr für die obige Veröffentlichung benutzt werden.

Untersuchung über den Shiga-Kruseschen Dysenterie-bazillus.

Von

Dr. Yonetarō Kikuchi.

Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.)

Nach den Versuchen Bails über Milzbrand, Typhus und Cholera, die dann zur Aggressintheorie verallgemeinert wurden, mufs ein jeder Krankheitserreger, der sich im Körper eines Tieres halten soll, die Schutzkräfte desselben, die wohl zum gröfsten Teile zelliger Natur sind, überwinden können.

Dies vermag er durch Ausbildung aggressiver Eigenschaften, was man sich unter dem Bilde einer Ausscheidung von Stoffen, die solche Fähigkeiten besitzen, den Aggressinen, vorstellen kann. Da die Aggressinlehre auf allgemeinere Gültigkeit im Gebiete der krankheitserregenden Bakterien und auch noch darüber hinaus, Anspruch macht, folgte ich gern der Aufforderung Bails, diese Verhältnisse für den Shiga-Kruseschen Bazillus der Ruhr klarzulegen.

Zur Verfügung stand anfangs nur eine aus dem Laboratorium Kral, dem für die gütige Überlassung der beste Dank ausgedrückt sei, stammende Kultur des Shigaschen Bazillus. Später stellte Herr Dr. Zupnik eine solche des Kruseschen Bazillus in liebenswürdiger Weise zur Verfügung. Mit diesen beiden Kulturen wurde ausschliefslich gearbeitet, und es stellte

sich, wie viele andere Untersucher (Drigalsky, Flexner, Lentz) gefunden hatten, deren vollständige Übereinstimmung heraus.

Der Bazillus ist ein Kurzstäbchen. Die Länge aber wechselt ziemlich stark, und es finden sich manchmal ganz kurze Exemplare. Er nimmt die Anilinfarbstoffe in der Regel intensiv an, doch findet man öfters schwach gefärbte Stäbchen, besonders in alten Kulturen sowie im Peritonealexsudate. Die bekannte Neigung der Bazillen, sich nebeneinander zu legen, wurde immer beobachtet. Auf Schrägagar wächst nach 10 Stunden ein flacher, feuchtglänzender und grau durchscheinender Belag. Auch sonst stimmten die benutzten Stämme in allen Punkten mit den bekannten Merkmalen der Shiga-Kruseschen Bazillen überein. Die Virulenz beider Stämme war eine sehr geringe. Von den Shigaschen mufsten zu Anfang der Versuche mehr als drei 10stünd. Agarkulturen verwendet werden, um ein kleines Meerschweinchen von ca. 200 g durch intraperitoneale Injektion zu töten. Später stieg die Virulenz zwar an, doch nur langsam, so dafs noch jetzt, nach vielen Tierpassagen die kleinste tödliche Dosis nicht unter $1/2$ Agarkultur liegt. Ähnliches gilt auch von dem später zum Versuch genommenen Kruseschen Stamm, von dem anfangs 1 Agarkultur die ungefähr intraperitoneal tödliche Dosis darstellte, und die bisher noch immer nicht nach der Zahl von Ösen oder Bruchteilen von solchen dosiert werden kann. Dies langsame Ansteigen der Virulenz und die Schwierigkeit, dieselbe über ein gewisses Mafs hinaus zu steigern, hat der Shiga-Krusesche Bazillus mit dem Choleravibrion, dem er auch sonst in vielfacher Hinsicht ähnelt, gemeinsam.

Die geringe, für die Anfangsversuche mit dem Shigaschen Stamme kann man fast sagen fehlende Virulenz würde sonst als ein Hindernis für die Anstellung von Infektions- und Immunitätsversuchen an Tieren betrachtet werden müssen. Für die geplante Arbeit war sie vielmehr ein Vorteil. Denn wenn es nur gelang, mit diesen so wenig virulenten Bazillen eine Aggressinbildung hervorzurufen und die Aggressine in brauchbarer Form zu gewinnen, so mufste sich ihre Wirksamkeit leicht nachweisen

und studieren lassen. Der Theorie entsprechend sollten diese Aggressine die Schutzkräfte eines normalen Meerschweinchens lähmen, und es war dann eine Vermehrung der in relativ kleinen, jedenfalls nicht tödlichen Dosen intraperitoneal eingespritzten Bazillen zu erwarten. Als die Giftbildung des Dysenteriebazillus erkannt war und ein gelöstes Gift sich leicht gewinnen liefs, hatte die geringe Virulenz wieder den Vorteil, zeigen zu können, dafs Infektiosität, d. h. die Fähigkeit, im Körper sich zu vermehren und Giftbildung in keinem engen Zusammenhange stehen können, wie dies bereits vom Diphtheriebazillus lange bekannt ist.

Giftversuche wurden vorwiegend an Kaninchen, Aggressin- und Infektionsversuche bisher ausschliefslich intraperitoneal an Meerschweinchen von ca. 200—250 g angestellt. Doch ist die Ausdehnung auf andere Infektionsarten und andere Tiere bereits in Angriff genommen und möge ebenso vorbehalten sein, wie das genauere Studium der Aggressinimmunität der Dysenterie, von welcher hier nur wenige Andeutungen gemacht werden sollen. Die Notwendigkeit gröfster Vorsicht bei solchen Immunisierungen, bei denen schon dem Begriffe nach fortwährend die Überempfindlichkeit der Tiere eine Rolle spielt, entschuldigt die Verzögerung.

Vor dem Eingehen in die Hauptpunkte dieser Arbeit dürfte es gut sein, die wesentlichen Erscheinungen bei der intraperitonealen Injektion von Meerschweinchen mit den hier gebrauchten, wenig infektiösen Bazillen hervorzuheben. Im grofsen ist das Bild der experimentellen Dysenterieperitonitis dem der intraperitonealen Typhus- und Cholerainfektion sehr ähnlich. Wenn man einer Anzahl Meerschweinchen abgestufte Mengen von Dysenteriebazillen in die Bauchhöhle injiziert, so beobachtet man folgendes Verhalten:

1. Eine untertödliche Dosis der Bazillen hält sich nach der Injektion eine gewisse Zeit lang, gewöhnlich 1—2 Stunden, während welcher Zeit man von Zellen nur Lymphozyten und kleine, polynukleäre Leukozyten bemerkt. Dann treten kleine, polynukleäre Leukozyten reichlich auf und gleichzeitig nehmen die Bazillen nach und nach ab. Schon nach 4 Stunden findet man neben Körnchen und aufgequollenen Bazillen nur spärliche gesunde Indi-

vidnen. Unter mehr oder weniger reichlicher Phagozytose gehen die Bazillen zugrunde und das betreffende Tier bleibt am Leben.

2. Bei der tödlichen Infektion ist das Verhältnis zwischen Leukozyten und Bazillen gerade umgekehrt. In den ersten Stunden sieht man aufser der selbstverständlichen Vermehrung der Bazillen keine Besonderheiten gegen den vorigen Fall. Dann aber vermehren die Bazillen sich progressiv mehr und mehr, während die Auswanderung der Leukozyten auf äufserst geringe Grade beschränkt bleibt. Was die Phagozytose anbetrifft, so ist der Befund unkonstant, manchmal findet von seiten der spärlichen Zellen starke, manchmal schwache oder gar keine statt. So gewinnen die Bazillen immer mehr die Oberhand in der Bauchhöhle und töten das Tier gewöhnlich innerhalb 24 Stunden oder weniger. Die Sektion solcher Tiere ergibt folgendes: Die Bauchhöhle ist gefüllt mit ca. 5—10 ccm ziemlich dickem, stark getrübtem, manchmal leicht blutig tingiertem Exsudat, welches eine Unzahl von Bazillen und eine Anzahl meist kleiner, polynukleärer Leukozyten mit verschiedener Intensität der Phagozytose enthält; aufserdem finden sich spärliche Lymphozyten und Endothelien vor. Beide Peritonealblätter, Mesenterium sowie Gedärme sind leicht hyperämisch. Leber, Milz und Netz sind bedeckt mit eitrig-fibrinösen Pseudomembranen, manchmal finden sich sogar freie Eiterflöckchen im Exsudat. In gefärbten Präparaten von solchen Auflagerungen konstatiert man sehr zahlreiche Makrophagen und grofse, polynukleäre Leukozyten mit ausgesprochener Phagozytose. Sämtliche gefressene Bazillen sind degeneriert, oft zu Körnchen zerfallen. Die Milz ist gewöhnlich nicht vergröfsert. Kein Geschwür auf der Darmschleimhaut. Darminhalt auch wie gewöhnlich. Die Brustorgane sind in der Regel intakt, nur ausnahmsweise findet sich wenig klare Flüssigkeit in der Brusthöhle. Die Lymphdrüsen zeigen keine Schwellungen.

Dem Begriff des Aggressins entsprechend war die Hoffnung vorhanden, solches in dem Bauchhöhlenexsudat, das die erste Vermehrungsstelle der Bazillen darstellte, aufzufinden.

Zu diesem Zweck wurde das Exsudat sorgfältig in sterilisierten Eprouvetten gesammelt und ungefähr 4 Stunden lang zentri-

fugiert. Dem in dieser Weise von allen zelligen Elementen und dem gröfsten Teil der Bazillen befreiten Exsudat wurden einige Tropfen Toluol zugesetzt, dann wurde stark geschüttelt und die Flüssigkeit unter luftdichtem Verschlufs ca. 4 Stunden im Eiskasten gelassen. Mit einer kleinen Pipette wurde das am Boden befindliche Exsudat aufgesaugt uud zur Verdunstung des Toluols in offener Schale gehalten. Oft wiederholte Untersuchungen zeigten, dafs nach dieser Behandlung stets völlige Sterilisation erfolgt war, wie das bei der bekannten Hinfälligkeit der Kruse-Shigaschen Bazillen zu erwarten war. Der Kürze halber wird ein derartiges Exsudat als Dysenterie-Aggressin bezeichnet.

Der Nachweis aggressiver Eigenschaften im Exsudate erfolgte durch gleichzeitige Einspritzung desselben, gemischt mit der untertödlichen Dosis von Bazillen in die Bauchhöhle kleiner Meerschweinchen von 200—250 g Gewicht. Wenn das Aggressin nämlich wirklich das Mittel war, durch welches die Dysenteriebazillen die Körperschutzkräfte lähmen, so mufste dadurch die Infektion begünstigt werden. Während sonst erst die in drei Agarkulturen enthaltenen Bazillen im Tierkörper so viel Aggressin bilden, als notwendig ist, um sich vermehren zu können, so konnte jetzt schon eine weit kleinere Zahl derselben tödlich wirken, wenn ihnen ihr Aggressiu gewissermafsen fertig mitgegeben wurde.

Tabelle I.

Das Aggressin wurde in der beschriebenen Weise von Meerschweinchen 3 gewonnen, welches nach intraperitonealer Injektion von 3,0 ccm Peritonealexsudat des mit 3 Agar und 1 Bouillon der Shigaschen Stammkultur tödlich infizierten Meerschweinchens 2, innerhalb 12 Std. gestorben war. Die Bauchhöhle enthielt ca. 5,0 ccm Exsudat. Dasselbe war trüb, dick und lieferte einen reichlichen Satz beim Zentrifugieren. Mikroskopisch enthielt dasselbe hauptsächlich Bazillen und wenige kleine polynukleäre Leukozyten. Reichliche Auflagerung auf der Leberoberfläche, bestehend aus Makrophagen und namentlich grofsen polynukleären Leukozyten mit Körnchenphagozytose.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
4	2,5 ccm	1 Öse erste Passage	Tot nach ca. 21 Std.	Ca. 2,5 ccm dickes, stark getrübtes Exsudat in der Bauchhöhle, welches eine Unzahl Bazillen und wenig kleine polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose enthält. Dicke Auflagerung auf der Leber.
5	—	1 Öse erste Passage		Das Tier bleibt ohne Reaktion am Leben.

Die dazu gebrauchte Kultur war allein in drei Agarkulturen auf einmal nicht imstande, ein Meerschweinchen zu töten.

Tabelle II.

Das Aggressin zum folgenden Versuch wurde von Meerschweinchen 4 genommen (s. Tab. I). Zur Infektion diente die fast avirulente Shigasche Stammkultur.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
6	—	1/4 Agarkultur		Nach 6 Std. sieht das Tier etwas unwohl aus, hatte sich aber in kurzer Zeit erholt und lebte ohne Krankheitszeichen.
7	2,5 ccm	1/4 Agarkultur	†	Nach 6 Std. war das Tier beträchtlich krank, lebte aber in diesem Zustand noch 4 Tage. Sektion ergibt kein Exsudat in der Bauchhöhle. Auflagerung auf Leber und Milz vorhanden, mikroskopisch mit großen und kleinen polynukleären Leukozyten. Keine Bazillen.

Tabelle III.

Das zum folgenden Versuche gebrauchte Aggressin stammt aus Tier 9, welches 4 Agarkulturen 10stündigen Kulturstamms und 1. Passage bekam und innerhalb 12 Std. starb. Ca. 10,0 ccm dickes, getrübtes Peritonealexsudat mit großen Mengen von Bazillen und zahlreichen Leukozyten. Die Auflagerung auf Leber und Milz reichlich. Zur Infektion wurden Bazillen der Shigaschen Stammkultur verwendet.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
10	1,0 ccm	1/2 Agar	Innerhalb 24 Std. tot	Unter progressiver Vermehrung der Bazillen erfolgt Tod innerhalb 24 Std. Sektion s. u.
11	3,0 ccm	1/2 Agar	Nach 7 Std. tot	Auffallender rapider Verlauf. Sektion s. u.
12		1/2 Agar		Nach 5 Std. fast keine Bazillen mehr in der Bauchhöhle, viele Leukozyten. Das Tier lebte ohne Krankheit.

Tabelle IV.

Eine 10 Std. alte Krusesche Stammagarkultur wird dem Tier 65 intraperitoneal injiziert. Das Tier starb innerhalb 30 Std. und hatte in der Bauchhöhle ca. 4,0 ccm stark getrübtes, dickes Exsudat. Dasselbe enthielt massenhaft Bazillen und zahlreiche kleine polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose. Das Aggressin dieses Exsudates wurde zum folgenden Versuche verwendet. Bazillen der Kruseschen Stammkultur.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
67	—	$^1/_{10}$ Agarkultur	—	Die nach $^1/_2$ Std. in der Bauchhöhle wimmelnden Bazillen verschwanden schon nach 3 Std. In der 1. Std. nur einige Leukozyten, welche an Zahl so rasch zunahmen, dafs nach 3 Std. schon reiner Eiter vorhanden war. So lebte das Tier ohne Krankheit.
68	2,0 ccm $^1/_2$ Std. 55 bis 60° C erhitzt	$^1/_{10}$ Agarkultur	nach 1 Woche tot	Kapillarentnahme ergibt wie bei Tier 67, nur Leukozyten aber immer weniger als bei Tier 67. Am anderen Morgen war die Bauchhöhle voll mit Leukozyten, während das Tier beträchtlich krank aussah. Einmal hat das Tier sich anscheinend erholt, aber die Abmagerung nahm allmählich zu. Endlich ging es durch Marasmus zugrunde. Sektionsbefund negativ.
69	2,0 ccm	$^1/_{10}$ Agarkultur	innerhalb 20 Std.	Progressive Vermehrung der Bazillen. Schon nach 3 Std. wimmelte die Bauchhöhle von Bazillen. In der 1. Std. wenige Leukozyten. Nachher sieht man wenige kleine polynukleäre Leukozyten mit schwacher Phagozytose. Überhaupt waren Leukozyten auffällig wenig. Bei der Sektion ca. 20 ccm äufserst dickes, stark getrübtes Exsudat in der Bauchhöhle. Aufser Bazillen findet man im Exsudat zahlreiche kleine polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose. Dicke Pseudomembranen auf Leber, Milz sowie Netz. Dieselben enthielten massenhaft grofse und kleine polynukleäre Leukozyten mit ausgesprochener Phagozytose.

Tabelle V.

Das zum folgenden Versuche verwendete Aggressin wurde von dem Tier 79 genommen, welches 1 Agarkultur Krusescher Bazillen II. Passage bekommen hatte und innerhalb 20 Std. gestorben war. In der Bauchhöhle fand sich ca. 7,0 ccm relativ dünnes, wenig getrübtes Exsudat, dessen Formbestandteile aus zahlreichen Bazillen und wenigen kleinen polynukleären Leukozyten mit schwacher Phagozytose und Lymphozyten bestanden. Dicke Leberauflagerungen enthielten aufser Bazillen viele grofse und kleine polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose. Die zum Versuche gebrauchten Bazillen sind Krusesche und wurden aus dem Peritonealexsudat des Tiers 79 gezüchtet.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
80	—	$^1/_4$ Agarkultur	nach 4 Tag.	Nach 5 Std. finden sich nur noch wenige Bazillen, welche 1 Std. später ganz verschwanden. Leukozyten dagegen nahmen fortwährend zu. Dabei war das Tier ganz munter. Nach 4 Tagen unerwarteterweise im Käfig tot gefunden. Die Sektion lieferte ein negatives Ergebnis.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
81	2,5 ccm	$^1/_4$ Agarkultur	innerhalb 20 Std.	Nach 5 Std. war bereits stärkste Vermehrung der Bazillen eingetreten, die bis zum Tode noch zunahm. Leukozyten waren immer nur in unbedeutender Zahl vorhanden. Bei der Sektion fand sich ca. 1,0 ccm dickes, stark getrübtes Exsudat in der Bauchhöhle. Dicke Membrane auf Leber, Milz und Netz. Die Formbestandteile des Exsudates waren neben unzähligen Bazillen, viele kleine polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose. In den Leberauflagerungen meistens grofse polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose.
82	2,5 ccm $^1/_2$ Std. 55-60°	$^1/_4$ Agarkultur	—	Nach 5 Std. wenige, nach 6 Std. keine Bazillen mehr. Leukozyten sieht man nach 5 Std. sehr viel. Sie nahmen progressiv zu. So blieb das Tier am Leben.

Im Anschlusse an diese Tabellen sei der genauere Sektionsbefund einiger dieser Tiere wiedergegeben. Denn während bei der nur durch Bakterien veranlafsten Infektion die früher erwähnten Sektionsbefunde mit einigen Ausnahmefällen gültig sind, zieht die Verschiedenheit des Sektionsbefundes bei vielen der mit Aggressin behandelten Tiere besondere Aufmerksamkeit auf sich. Es handelt sich dabei um eine auffällige Zellarmut des Peritonealexsudates, welche ich nicht selten beobachtete.

Meerschweinchen Nr. 10 (s. Tab. III). Die Sektion ergibt: Unterhautbindegewebe der Bauchgegend stark ödematös durchtränkt (ein bei Aggressintieren häufiger Befund). In der Bauchhöhle befindet sich ca. 3,0 ccm dünnes, getrübtes und leicht blutig gefärbtes Exsudat.

Mikroskopisch konstatiert man, dafs die Trübung hauptsächlich aus Bazillen besteht, neben denen nur spärliche kleine polynukleäre Leukozyten vorhanden sind. Leber und Milzoberfläche sind mit spärlichen Pseudomembranen bedeckt, welche aus Fibrin und wenigen kleinen polynukleären Leukozyten und Makrophagen bestehen. Phagozytose dabei äufserst schwach. Gedärme sowie andere Organe zeigen nichts Besonderes.

Meerschweinchen Nr. 11 (s. Tab. III). Bei der Sektion findet man ca. 5,0 ccm getrübtes und stark blutig tingiertes Exsudat in der Bauchhöhle, welches fast ausschliefslich aus Bazillen und

roten Blutkörperchen besteht. Leukozyten fast keine, nur einige Lymphozyten. Keine Auflagerung auf Leberoberfläche.

Meerschweinchen Nr. 15 (s. Tab. VI) bekam 2,5 ccm Aggressin (stammt aus Tier Nr. 9), und $^1/_3$ Agarstammkultur Shigascher Bazillen und stirbt nach ca. 20 Stunden. In der Bauchhöhle findet sich ca. 1,0 ccm stark getrübtes und leicht blutiges Exsudat, welches mikroskopisch fast nur aus Bazillen mit äufserst spärlichen Leukozyten besteht.

Diese Zellarmut und die geringe Ausbildung von eitrigen Auflagerungen auf Leber, Milz und Netz sind wohl bemerkenswert. Aufserdem gibt es eine Anzahl von Tieren, welche zwar die akute Infektion überstehen, aber erst nach längerer Zeit (8—10 Tagen) mit hochgradigem Marasmus zugrunde gingen. Diese zeigten einen ganz anderen Sektionsbefund, bei dem vor allen Dingen eine aufsergewöhnliche Abmagerung ins Auge fiel. Peritonealblätter und Gedärme waren blafs, in der Bauchhöhle fand sich keine abnorme Flüssigkeit. Der Magen war gewöhnlich leer. auch Dünn- und Dickdarm sehr wenig gefüllt, Leber- und Milzoberfläche waren glatt und zeigten öfters fettige Degeneration. Mikroskopisch sowie kulturell waren nirgends Bazillen nachzuweisen.

Diese letzte Gruppe gehört nicht mehr in den Rahmen der typischen Aggressinwirkung, sondern mehr zur Dysenterievergiftung, über welche später einiges zu sagen sein wird.

Die angeführten Versuche beweisen zunächst in ihrem Ausgange die gemachte Voraussetzung, dafs untertödliche Dosen von Bazillen unter dem Einflusse des Aggressins zu tödlichen werden. Der Sektionsbefund der Tiere zeigt, dafs die vorausgesetzte Vermehrung der Bazillen wirklich eingetreten war; dasselbe geht aus der Beobachtung der Vorgänge in der Bauchhöhle nach der Issaeffschen Methode hervor, welche zeigt, dafs die Bazillen schon kurze Zeit nach der Injektion an Zahl zunehmen. Überdies lehrt der Sektionsbefund meistens, die unmittelbare Beobachtung immer, dafs die Zahl der in die Bauchhöhle eintretenden Leukozyten andauernd gering bleibt. Da, im Gegensatze dazu, die Tiere, welche nur Bazillen ohne Aggressin erhalten hatten, verhältnismäfsig sehr bald starke Hyperleukozytose in der Bauch-

höhle zeigten, so kann das Ausbleiben desselben bei den Aggressintieren nur den Eigenschaften des Aggressins zugeschrieben werden. Auch das stimmt mit dem Begriffe des Aggressins überein, da zahlreiche Gründe vorliegen, die Leukozytose als sehr wesentliche Schutzeinrichtung des Körpers aufzufassen. Die Wirkung der Leukozyten besteht aber, wie Metschnikoff und seine Schüler in langjährigen Versuchen bewiesen haben, vorwiegend in Phagozytose.

Darauf mufste hauptsächlich deshalb geachtet werden, weil sich diese Wirkung unmittelbar beobachten läfst. Es wäre von vornherein denkbar, dafs eine Wirkung des Aggressins auf die Leukozyten eine dreifache sein könnte: 1. Zerstörung der Leukozyten, so dafs dem Aggressin etwa die Wirkung eines Leukozidins, wie ein solches bei Staphylokokkus durch van de Velde gefunden wurde, zukäme. 2. Verhinderung der Phagozytose, die man sich verschieden denken könnte. 3. Abhaltung der Leukozyten, also wesentlich negative chemotaktische Wirkung, wie sie bereits von Bordet und Massart[1]) verschiedenen Stoffwechselprodukten von Bakterien zugeschrieben wurde. Es läfst sich mit Sicherheit aussagen, dafs die letzte Eigenschaft des Aggressins die wesentliche, wenn nicht die einzige ist. Degenerationserscheinungen, die denen nach Anwendung von Staphylokokken Leukozidin ähneln und die Zelle als eine leere Blase zurücklassen, fehlten nicht ganz, waren aber verhältnismäfsig ebenso selten wie bei normaler Infektion. Auch Phagozytose wurde immer beobachtet, wenngleich es ab und zu schien, als ob sie in Aggressintieren schwächer sei; besonders die in den Auflagerungen vorhandenen Zellen wirkten als Phagozyten und schienen in dieser Wirkung nicht behindert, da Körnchenbildung in den Zellen immer zu sehen war.

Es greift somit das Aggressin weder das Leben, noch die Funktion der Leukozyten in höherem Grade an, aber es hält sie vom Orte der Infektion zu einer Zeit fern, wo ihre Anwesenheit besonders nötig wäre.

1) Annales de l'Institut Pasteur, 1891.

Granula aufserhalb der Zellen, sowie die Degenerationsformen, die Radzievsky[1]) beschrieben hat, können bei den Aggressintieren ebensowohl wie bei normalen beobachtet werden, und da man diese wohl sicher der bakteriziden Wirkung der Bauchhöhlenflüssigkeit zuschreiben mufs, so scheint es nicht, als ob die Aggressinwirkung sich wesentlich gegen diese richten würde. Eine sichere Entscheidung wird allerdings durch die Vermehrung der Bazillen im Aggressintiere erschwert.

Was überhaupt den Umfang der extrazellulären Bazillenzerstörung betrifft, so scheint er unter Umständen ansehnlich sein zu können, denn es wurde mehrfach bemerkt, dafs eine Abnahme der Bazillen im freien Exsudate schon zu einer Zeit festzustellen war, ehe noch ausgiebige Phagozytose infolge Leukozytenmangels eintreten konnte. Aber abgesehen davon, dafs die Verminderung der Bazillen im freien Exsudate auch dadurch bedingt sein kann, dafs die Bazillen an das parietale Peritoneum, an Netz, Leber etc. sich anlagern (Metschnikoff, Gruber und Durham), so treffen doch Phagozytose und definitives Verschwinden der Bakterien meist so genau zusammen, dafs dieser eine Bedeutung zukommen mufs.

Eine andere sehr oft zu machende Beobachtung gehört vielleicht auch hierher; auch nach Einspritzung verhältnismäfsig kleiner Dosen von Bazillen, zeigen kleine Meerschweinchen Anzeichen von Krankheit, die sich in dem ca. 1 Stunde nach der Einspritzung auftretenden eigentümlich struppigen Aussehen offenbaren. Das verliert sich, sobald die Kapillarentnahme reinen Eiter in der Bauchhöhle zeigt.

Es ist jedenfalls nicht leicht, über das Ausmafs der bakteriziden Kräfte in der Flüssigkeit ein sicheres Urteil abzugeben und einen Vergleich darüber anzustellen, wie viele Bakterien von vornherein ganz aufgelöst und wie viele durch Leukozyten beseitigt werden. Denn abgesehen davon, dafs eine sekundäre Phagozytose bereits degenerierter Bazillen vorkommen kann, darf nie vergessen werden, dafs die Issaeffsche Methode nur über

1) Zeitschrift für Hygiene, 37, 1.

einen Teil der Vorgänge in der Bauchhöhle Aufschlufs zu geben vermag.

Es mufs auf die ohne Ausnahme zu beobachtende Erscheinung hingewiesen werden, dafs die stärkste Phagozytose nicht an den Zellen des freien Exsudates, sondern an denen der Netz-, Leber- und Milzauflagerungen eintritt.

Wenn aber nach den Beobachtungen von Metschnikoff und Gruber und Durham ein Teil der injizierten Bazillen am Peritoneum festgehalten wird, so sind für diesen die Bedingungen ganz andere als für den Teil derselben, der in der freien Bauchhöhle verbleibt. Sowie sich nämlich auch nur eine sehr dünne Schicht von Leukozyten z. B. am Netz, wo das besonders rasch eintreten wird, angesammelt hat, so bestehen hier die Bedingungen des Metschnikoffschen Versuches: relativ viel Zellen in relativ sehr wenig Körperflüssigkeit (s. Bail). Eine extrazelluläre Bakteriolyse kann nicht mehr stattfinden, sondern nur noch Phagozytose und wie ausgiebig diese sein kann, beweisen die Befunde, wo noch im toten Tiere nur wenig freie Bazillen zwischen den Zellen liegen. Wenn man weiter bedenkt, dafs gerade in den Auflagerungen sich jene Zellen, oft fast ausschliefslich ansammeln, die besonders zur Phagozytose befähigt sind, grofse polynukleäre Leukozyten und Makrophagen, so erscheint es als möglich, dafs am Peritoneum der Kampf des Organismus mit den eingespritzten Bazillen am aussichtsreichsten für das Tier geführt werden kann. Im freien Exsudate liegen die Verhältnisse etwas ungünstiger; denn erstens sind hier im Anfang nur relativ wenig Zellen vorhanden, und sie werden durch die Bakterieninjektion noch weiter vermindert. Wenn also hier überhaupt etwas in Erscheinung treten könnte, so wäre es die Bakteriolyse. Strömen dann Zellen in die Flüssigkeit ein, so handelt es sich zuerst um kleine Polynukläre, deren Phagozytose sichtlich geringer ist als die der Makrophagen. Bilden die in der freien Bauchhöhle verbleibenden und nicht unmittelbar von der Bakteriolyse zerstörten Bazillen vermöge ihrer Zahl und Virulenz genügend Aggressin, um den Zuzug von vielen Leukozyten abzuhalten, so vermehren sie sich und töten das Tier durch Gift-

bildung oder ihre eigene Giftigkeit, während an den Wänden der Peritonealhöhle der Sieg für den Körper entschieden ist. Dasselbe wird natürlich der Fall sein, wenn künstlich Aggressin eingespritzt wird.

Wird die Aggressinmenge entweder durch unmittelbare Injektion oder durch Bildung desselben in grofsem Mafsstabe bei vielen und virulenten Bakterien sehr grofs, dann findet allerdings auch keine Ansammlung von Leukozyten an der Bauchhöhlenwand statt, und es entsteht das von vornherein feststehende Bild der schwersten Infektion.

Derartige Erwägungen, die bei einem Vergleich der Ergebnisse der Issaeffschen Beobachtung und des Sektionsbefundes, sowie der Verhältnisse der Aggressintiere auftauchen müssen, führen zu dem Schlusse, dafs das Schicksal von intraperitoneal geimpften Meerschweinchen einzig und allein im flüssigen Exsudate entschieden wird, während sonst in der Bauchhöhle, wenn nicht sehr hohe Multipla der tödlichen Bakteriendosis angewendet werden, für das Überleben des Tieres nur günstige Aussichten bestehen.

Dafs vielerlei Abstufungen in dem erwähnten Verhältnisse zwischen freier Bauchhöhle und Bauchhöhlenwand bestehen können, bedarf nicht erst der Versicherung. Es tritt auch in dem Sektionsergebnisse einiger der in den Tabellen erwähnten Tiere klar hervor. So ergab die fortlaufende Beobachtung bei den Tieren 69 und 81, dafs während langer Zeit nur wenig Leukozyten im freien Exsudat zu finden waren. Erst gegen das Lebensende, wo wegen der sichtbaren Krankheit der Tiere keine Kapillarentnahme mehr gemacht wurde[1]), dürften noch Zellen und zwar die wenig zur Phagozytose geeigneten kleinen polynukleären Leukozyten ausgetreten sein, die sich dann in der geringen Menge des angesammelten Exsudates vorfanden. Aber die dicken Eiterauflagerungen auf Leber und Milz beweisen, dafs hier die

1) Sind die Tiere bereits krank, so ist bei Kapillarentnahme eine Verletzung des Darms, offenbar infolge atonischer Zustände desselben, leicht möglich.

Lähmung der Leukozyten durch das Aggressin keine vollständige war, so dafs trotz der im Verlauf und im Ausgang des Versuches unzweideutigen Aggressinwirkung, die aber doch schwächer war als bei den Tieren 10 und 11, noch der Sektionsbefund der leichten Infektion eintreten konnte.

Beobachtungen über die Wirkung des aggressinhaltigen Exsudats allein wurden gelegentlich von Immunisierungsversuchen sehr zahlreich gemacht. Es stellte sich heraus, dafs Meerschweinchen die Einspritzung kleiner Quantitäten unter die Haut (bis zu 1 ccm) meist ohne jeden Schaden, höchstens mit geringer, rasch vorübergehender Abmagerung vertragen.

Auch intraperitoneal wirkt 1 ccm nicht wesentlich auf das Wohlbefinden der Tiere ein; Mengen bis 2,5 ccm entfalten eine verschiedene Wirkung, was offenbar mit dem Umstande zusammenhängt, dafs die Dysenterieexsudate, die man erhalten kann, untereinander nicht gleichwertig sind, ein Punkt, in dem der Dysenteriebazillus wieder mit dem Choleravibrio nach Bails Untersuchungen übereinstimmt. Das trifft sowohl für die rein aggressive Wirkung, die mit untertödlichen Bazillendosen bestimmt wurde, als für die Giftigkeit für Meerschweinchen zu.

Dies gilt sogar für Kaninchen, obwohl diese Tiere im Vergleich zu Meerschweinchen enorm giftempfindlich sind.

Versuche wie die oben erwähnten, bei denen die wichtige Aggressineigenschaft, durch welche die Vermehrung einer sonst dazu nicht befähigten Bazillenzahl bewirkt wird, rein hervortritt, können andere entgegengestellt werden, welche in zweifacher Richtung abweichend verliefen. Erstens solche, bei denen die mit Aggressin und Bazillen geimpften Tiere ebensogut überlebten wie diejenigen, welche Bazillen allein erhalten hatten. Hier handelt es sich eben um vollständiges Fehlen jeder Aggressivität.

Tabelle VI.

Zur Verwendung gelangen Aggressin 9 aus dem zellreichen Exsudate von Meerschweinchen 9 (s. Tab. III) und Aggressin 10 (s. Tab. III), welches sehr zellarm war. Beide Exsudate enthielten massenhaft Bazillen.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
14	1,0 ccm Aggr. 9	1/3 Agarkultur Stamm Shiga	—	Nach 2 Std. fast keine Bazillen mehr. Leukozyten in geringer Zahl. Am anderen Tag war das Tier krank, enthielt in der Bauchhöhle Eiter. Vereinzelte Bazillen waren noch zu finden. Das Tier erholte sich rasch.
15	2,5 ccm Aggr. 9	1/3 Agarkultur Stamm Shiga	in der Nacht	Nach 2—4 Std. in der Bauchhöhle Leukozyten spärlich. Ca. 1,0 Exsudat, dessen Trübung fast nur aus Bazillen besteht. Sektion s. S. 386.
13	2,5 ccm Aggr. 10	1/3 Agarkultur St. Shiga	—	Nach 2 Std. Bazillen fast verschwunden. Mässige Zahl von Leukozyten. Das Tier magerte etwas ab, erholt sich aber rasch.

Tabelle VII.

Zur Verwendung gelangt Aggressin von Meerschweinchen 23. In Nr. 23 war das Exsudat dick, auf Leber, Netz und Milz fanden sich reichlich Auflagerungen.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
27	1,0 ccm von Nr. 23	1/3 Stamm Kultur		Ohne Krankheit geblieben, rasch vorübergehende Abmagerung.
28	2,5 ccm v. Nr. 23	wie 27		Langdauernde Abmagerung; nach 14 Tagen erbolt.
29	wie 28	—		Wie Nr. 28.

Der in Tabelle VI angegebene Versuch gehört zu der grofsen Zahl derjenigen, die angestellt wurden, um die Bedingungen kennen zu lernen, unter denen ein aggressinreiches Exsudat entsteht. Nach dem Versuche in Tab. VI würde ein zellreiches Exsudat besser wirken; da aber der Zellreichtum eines Exsudates durch die Schwere der Infektion bedingt wird, und reichliches Auftreten von Leukozyten die Bedeutung einer Abwehrmafsregel hat, so würde sich mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit sagen lassen, dafs Aggressine eines Dysenteriebazillus dann am reichsten entstehen, wenn derselbe gezwungen ist, sich gegen die in die Bauchhöhle reichlich vordringenden oder daselbst schon vorhandenen Leukozyten zu verteidigen.

Das ist der Fall, wenn gerade nur die tödliche Dosis der Bazillen oder nicht allzuviel darüber angewendet wird, oder wenn es sich um Tiere handelt, die nach Bouilloninjektion mit Eiter

in der Bauchhöhle resistent sind. Tatsächlich waren zellreiche Exsudate in der Regel die besten. Daraus folgt nicht, dafs Dysenteriebazillen, die, in grofser Menge eingespritzt, Meerschweinchen mit dem Bilde schwerer Infektion und grofser Zellarmut in der Bauchhöhle töten, kein Aggressin bilden würden. Aber Bildung von Aggressin und Ansammlung desselben in einer pathologischen Flüssigkeit sind zwei verschiedene Dinge, die nebeneinander vorkommen können, aber nicht müssen.

Es mufs aber sofort bemerkt werden, dafs nicht alle Versuche das gleiche Ergebnis hatten. Es kam vor, dafs ein zellarmes und ein zellreiches Exsudat nachweisbares Aggressin enthielten, aber auch dafs es beiden fehlte oder dafs, wie in Tab. VII, das zellreiche wenig wirkte. Es mufs daher die oben aufgeworfene Frage offen bleiben und es ist vorläufig bis zu einem gewissen Grade Zufall und Glückssache, ein hochwirksames Aggressin zu finden. Es wäre vielleicht möglich, durch Verwendung sehr grofser Exsudatmenge (bis 5,0 ccm) überall aggressive Wirkung zu erhalten, doch ist dies aus dem gleich zu erwähnenden Grunde der Giftigkeit solcher Exsudate nicht sehr ratsam. Ähnlichen Schwierigkeiten, wie sie hier beim Dysenteriebazillus vorlagen, war auch Bail bei Cholera begegnet. Diese zeigt auch sonst mit Dysenterie grofse Ähnlichkeit, was sich bei einem nunmehr zu erwähnenden Punkte ebenfalls äufserte.

Bail hatte gefunden, dafs gleichzeitige intraperitoneale Injektion von Choleravibrionen und Choleraaggressin die schützende Wirkung eines bakteriziden Immunserums aufheben kann. Dabei starben die Tiere nach ganz kurzer oder auch längerer, mehrtägiger Zeit, aber in den meisten Fällen war keine Vermehrung, sondern Abtötung der Vibrionen erfolgt. Im Grunde genommen entsprechen solche Fälle scheinbar nicht mehr dem Begriffe des Aggressins, das ja eine Vermehrung der Bazillen infolge Lähmung der Schutzkräfte des tierischen Körpers voraussetzt.

Bekanntlich hatte bereits Pfeiffer bei einfachen intraperitonealen Infektionsversuchen gefunden, dafs die Injektion einer bestimmten Menge von Choleravibrionen den Tod von Meerschweinchen ohne Vermehrung, ja sogar mit Abtötung aller

Vibrionen herbeiführt. Pfeiffer wie Bail ziehen zur Erklärung dieser Erscheinung die Giftigkeit der Vibrionen heran, betrachten also den Tod von Meerschweinchen mit steriler Bauchhöhle einfach als Gifttod. Während aber damit das Pfeiffersche III. Cholerastadium vollständig erklärt erscheint, war Bail für seine Versuche zu einer Erweiterung der Vergiftungserklärung gezwungen. Denn es handelte sich bei seinen Versuchen stets um zwei Tiere, welche die gleiche Serum- und Vibrionenmenge erhalten hatten, nur dafs das eine gleichzeitig auch aggressinhaltiges Exsudat mit erhielt. Dieses Tier starb an Vergiftung, während das andere ohne jede Krankheit blieb. Für eine Erklärung zieht Bail zwei Möglichkeiten in Betracht, da für die Annahme einer »Antiantitoxizität« des Choleraaggressins etwaigen antitoxischen Eigenschaften des Choleraserums gegenüber kein Anhaltspunkt vorliegt. Entweder enthalten weder die aggressinhaltige Flüssigkeit noch die Vibrionen das eigentliche wirksame Choleragift, das erst bei Zusammentreten beider gebildet wurde — dagegen könnte das Serum natürlich nicht schützen —, oder aber es sei das Gift vorwiegend nur in den Choleravibrionen enthalten, aber es sei stärker wirksam, als man bisher nach dem Versuche mit toten Vibrionen (Pfeiffer) annahm. Dann stirbt ein mit Choleraserum behandeltes Tier nach der Vibrionenauflösung deshalb nicht, weil die rasch in die Bauchhöhle einströmenden Leukozyten (Gruber und Durham, Durham) in einer Beziehung zur Giftzerstörung nach Metschnikoffs u. a. Annahme stehen. Wenn nun durch Aggressinwirkung das Auftreten von Leukozyten verhindert oder verzögert wird, so kann das durch Vibrionenzerstörung löslich gemachte Gift ohne wesentliches Hindernis resorbiert werden und die Tiere töten. Versuche mit reinem Dysenteriegift, die ich an Kaninchen anzustellen Gelegenheit hatte, lassen die letztere Anschauung als die wahrscheinlichere bezeichnen.

Zunächst sei das Ergebnis einer Anzahl diesbezüglicher Versuche mitgeteilt. Es mufs bemerkt werden, dafs sie den Verhältnissen bei Versuchen mit Choleraserum + Aggressin + Vibrionen durchaus vergleichbar sind. Denn die Immunität, die in diesen Choleraversuchen durch das Immunserum künstlich erzielt wird,

ist hier ersetzt durch die natürliche Immunität der Meerschweinchen gegen geringe Dose wenig virulenter Dysenteriebazillen.

Tabelle VIII.

Das Aggressin wird gebildet vom sterilen Exsudat des Meerschweinchens 21, welches nach Injektion von 2 Agar + 1 Bouillonkultur Shigascher Bazillen nach ca. 15 Std. gestorben war. Zur Infektion diente Agarkultur des Shigaschen Bazillus »Stamm«.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
25	1,0 ccm	½ Agarkultur	nach 12 Tagen	Das Tier war am nächsten Tage krank und erholte sich nicht mehr. Bei der Sektion ergab sich aufser hochgradiger Abmagerung kein Befund. Kultur blieb steril.
26	2,5 ccm	½ Agarkultur	weniger als 8 Std.	In der Bauchhöhle klares dünnes Exsudat, ohne Bazillen mit wenigen kleinen polynukleären Leukozyten, keine Auflagerung auf Leber und Milz. Einige geschwellte Mesenterialdrüsen. Kulturen aus dem Exsudat auf Schrägagar liefern vereinzelte Kolonien.
30	2,5 ccm	—	nach 19 Tagen	Marastisch. 1 ccm leicht blutiges Exsudat ohne Bazillen mit roten Blutkörperchen und polynukleären Leukozyten. Kultur steril.

Tabelle IX

Als Aggressin dient das sterile Exsudat des Tiers 48, welches der Infektion mit Shigaschen Bazillen (von Tier 47) nach weniger als 18 Std. erlegen war. Zur Infektion dienten gewaschene tierische Bazillen aus Tier 48.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
49	—	Eine Hälfte d. tierischen Bazillen des Tiers 47	—	Lebt ohne Krankheit.
50	1,5 ccm	wie Tier 49	nach 9½ St.	Ca. 1,0 dünnes, kaum trübes Exsudat, das fast nur Lymphozyten neben wenigen kleinen polynukleären Leukozyten enthielt. Auf der Leber fast keine Auflagerungen, die sich nur auf der stark vergröfserten Milz finden und aus grofsen polynukleären Zellen bestehen. Mikroskopisch und kulturell Sterilität.

Tabelle X.

Das Aggressin zum folgenden Versuche wurde von Meerschweinchen 19 genommen, welches nach intraperitonealer Impfung mit 1 Agarkultur der 6. Passage des Shigaschen Bazillus nach 10 Std. gestorben war. Ca. 8,0 ccm dünnes, zellarmes und blutig gefärbtes Exsudat in der Bauchhöhle, darin zahllose Bazillen und wenige Leukozyten. Spärliche Auflagerungen auf der Leber. Zur Infektion diente die avirulente Stammkultur.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
20	1,0 ccm	1/2 Agarkultur	—	Ohne Reaktion.
21	2,5 „	1/2 Agarkultur	nach 10 Tag.	Keine sofortige Reaktion, doch erfolgte unter starker Abmagerung an 10 Tagen der Tod.
22	2,5 „	—	—	Keine direkte Reaktion. Etwa 12 Tage lang deutliche Abnahme des Körpergewichtes, dann vollständige Erholung.

Tabelle XI.

Als Aggressin dient das sterile Exsudat des Meerschweinchens 59, das nach intraperitonealer Infektion mit 1 1/2 Agarkultur Shigascher Bazillen innerhalb ca. 18 Std. erlegen war. Zur Infektion dienten Shigasche Bazillen von Tier 48.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
60	—	1/2 Agarkultur	—	Nach 6 Std. Bazillen fast verschwunden, massenhafte Leukozyten. Am nächsten Tage ist das Tier munter. In der Bauchhöhle ist reiner Eiter mit reichlichen Makrophagen. Das Tier lebte ohne wesentliche Gewichtsabnahme.
64	0,75 ccm	wie Tier 60	nach 6 Tag.	Bei der nach 6 Std. erfolgten Kapillarentnahme wurde der Darm verletzt; das Tier magerte rapid ab und zeigte Nekrose der Bauchdecke. Die Sektion ergab starke parenchymatöse Degeneration der Leber und Niere. Kultur steril.
61	2,25 ccm	wie Tier 60	nach 6 Tag.	Nach 6 Std. spärliche Bazillen, teils frei, teils in Ketten. Sehr spärliche Leukozyten. Am nächsten Tage fanden sich viele Leukozyten in der Bauchhöhle; dabei war das Tier schwer krank. So ging das Tier unter starker Abmagerung nach 6 Tagen zugrunde. Die Sektion ergab Marasmus mit fettiger Degeneration der Leber und Trübung der Milz.
62	0,75 ccm 1/2 Std. 55–60°	wie Tier 60	—	Nach 6 Std. spärliche Bazillen, auch wenige Leukozyten. Das Tier erholt sich rasch.
63	2,2 ccm 1/2 Std. 55–60°	wie Tier 60	nach 2 Tag.	Nach 6 Std. finden sich nur spärliche Bazillen und sehr spärliche Leukozyten. Am nächsten Tage war das Tier schwer krank, enthielt in der Bauchhöhle rein Eiter.

Die starke Giftigkeit der Dysenteriebazillen ist seit Shigas und Kruses Untersuchungen bekannt und seither immer bestätigt worden (s. Lentz[1]). Sie äufsert sich allerdings für Kaninchen weitaus stärker als für die viel weniger giftempfindlichen Meerschweinchen. Doch gelingt es ab und zu, auch für diese Befunde zu erhalten, die genau dem Bilde des Pfeifferschen III. Stadiums bei Cholera entsprechen. Hier wie dort mufs man dann eine direkte Vergiftung durch die eingespritzten Bazillen annehmen.

Meerschweinchen 58 erhielt 1 Agarkultur Shigascher Bazillen von Tier 47 und starb innerhalb 20 Std. Sektionsbefund ergab ca. 8,0 ccm trübes, flockiges Exsudat in der Bauchhöhle. Viele Auflagerung auf der Leber. Die Milz leicht vergröfsert. Formbestandteile des Peritonealexsudats sowie der Leberauflagerung waren massenhafte kleine und grofse polynukleäre Leukozyten. Mikroskopisch und kulturell nirgends Dysenteriebazillen nachweisbar.

Mit dieser Giftigkeit läfst sich auch der in den oben erwähnten Tabellen geschilderte Befund leicht erklären. Bei Tier 58 handelt es sich um genau die gleichen Verhältnisse, wie sie Pfeiffer zur Erklärung der Choleravergiftung herangezogen hatte. Die in verhältnismäfsig grofser Zahl eingeführten Bazillen sind nicht stark genug, um durch reichliche Aggressinbildung die Schutzkräfte und Schutzzellen abzuhalten und sich infolgedessen zu vermehren. Die reichlichen, durch kein Aggressin ferngehaltenen Leukozyten rufen das Bild des III. Pfeifferschen Stadiums mit reichlichen eitrigen Auflagerungen auf Leber etc. hervor. Anderseits enthielten die injizierten Bazillen Gift genug, um das Tier zu töten und die einströmenden Leukozyten vermochten dasselbe nicht zu paralysieren. In dem Aggressinversuche hingegen war zwar der Bazillus und infolgedessen auch die Giftmenge kleiner, an sich nicht zur Tötung des Tieres ausreichend, wohl aber dann, wenn durch die Aggressinwirkung ein Fernbleiben der Leukozyten und ihrer giftparalysierenden Fähigkeit erzwungen wurde. Diese Leukozytenabhaltung läfst sich in den Tabellen teils am Sektionsbefunde ohne weiteres erkennen, teils erwies sie die direkte Beobachtung. Ein verspätetes Ein-

1) Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, II. Bd, S. 309.

wandern der Leukozyten, wie es z. B. bei den Tieren 61 und 63 (Tab. XI) am Tage nach der Infektion feststellbar war, kann offenbar das Tier nicht retten, da die Giftresorption sich ungefähr in 6 Stunden vollzieht. Die Gegenüberstellung der Befunde am Tier 58 und 50, von denen der erstere mikroskopisch genau dem III., der letztere dem IV. Pfeifferschen Stadium entspricht, läſst die Bedeutung der Leukozytenabhaltung auſserordentlich klar erkennen. In beiden Fällen Zugrundegehen der Bazillen, bei raschem Tod des Tiers, aber ganz abweichender Zellbefund, der nur aus der Aggressinwirkung zu erklären ist.

Aus diesem Grunde scheint auch ein sonst sehr ansprechender Erklärungsversuch unmöglich, der sich auf eine einfache Giftaddition stützen würde. Denn das aggressinhaltige Exsudat an sich ist giftig, und es ist höchst wahrscheinlich, daſs mindestens ein Teil der Giftigkeit auf die Auflösung von Bazillenleibern zurückzuführen ist. Giftig sind auch die injizierten Bazillen, und es könnte durch ihre Auflösung genug resorbierbares Gift entstehen, um mit dem bereits gelösten des Exsudats zusammen das Tier zu töten. Dann bleibt aber die Verschiedenheit des Zellbefundes im Vergleich zu einem bloſs mit Bazillen getöteten Tiere (Nr. 58) unverständlich.

Die andere Annahme Bails, daſs das eigentliche Gift erst durch Zusammentreten zweier Giftkomponenten, deren eine im Exsudate, die andere in dem Bazillus selbst vorhanden ist, entstünde, lieſse sich auch für den Dysenteriebazillus als möglich denken: sie lieſse die Möglichkeit einer Leukozytenabhaltung, also einer aggressiven Wirkung neben der toxischen zu. Es wäre aber natürlich nicht leicht, den Beweis dafür zu führen. Es läſst sich somit sagen, daſs Aggressinversuche, bei denen der Tod von Tieren ohne Vermehrung der Bazillen erfolgt, nur scheinbar dem Begriff des Aggressins widersprechen. Wenngleich das Wachstum der Bazillen ausbleibt, so tritt doch die Abhaltung von Zellen bei diesen Tieren mehr oder weniger deutlich hervor und ist höchst wahrscheinlich die Hauptursache des Todes der Tiere; aus diesem Grunde führen daher Bazillenmengen, die stark unter der tödlichen Dosis liegen, den letalen Ausgang her-

bei. Für das Zugrundegehen der Bazillen sind zureichende Ursachen in der sehr grofsen Hinfälligkeit derselben vorhanden. Es ist anzunehmen, dafs weitere Versuche mit den inzwischen virulenter gewordenen Bazillen diese Annahme bestätigen und auch volle Aufschlüsse über einen anderen nur teilweise klargestellten Punkt geben werden, welcher die Beständigkeit der aggressiven Eigenschaften eines Exsudates betrifft. Einige Versuche sprechen für eine überaus grofse Hinfälligkeit derselben. So war in der folgenden Tabelle schon eine nach geringem Karbolzusatz erfolgte Erwärmung auf 42° C hinreichend, um die starke Aggressivität eines Exsudates aufzuheben.

Tabelle XII.

Als Aggressin dient das Exsudat von Meerschweinchen 16, welches nach intraperitonealer Impfung mit 3 Agar- und 1 Bonillonkultur Shigascher Bazillen in weniger als 20 Std. gestorben war. Das Exsudat wurde klar zentrifugiert und ein Teil als solches verwendet, der andere mit 0,25 % Karholsäure 2 Std. bei 42° C gehalten, wonach Sterilität eingetreten war. Zur Infektion wurde diesen Proben aufser Shigasche Kultur »Stamm« noch ein Tropfen Aufschwemmung tierischer Bazillen aus Meerschweinchen 16 zugesetzt.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
17	2,0 ccm	1/3 Agarkultur	In der Nacht	Bazillen in der Bauchhöhle immer reichlich. Erst nach 8 Std. zeigte sich ein geringes Eintreten von Leukozyten in die Bauchhöhle, das dann zuzunehmen scheint, da im toten Tiere wenige Tropfen eitrigen Exsudates und Auflagernng auf Leber und Milz vorhanden waren. Bazillen zahllos. Phagozytose nur schwach.
18	2,0 ccm karbolisiert u. 2 Std. bei 42° C erwärmt	1/3 Agarkultnr		Leukozyten treten viel reichlicher als bei Tier 17 auf. Doch kann man erst nach 8 Std. von Eiter reden. Bazillen nehmen rasch ah. Das Tier erholte sich nach starker Ahmagerung.

Zu dem Versuch in Tabelle IV und V, wo Aggressine verwendet wurden, unter deren Einflufs eine Vermehrung der Bazillen erfolgen konnte und wo 1/2 Stunde Erhitzung auf 55—60° eine sehr bedeutende Abschwächung herbeigeführt hatte, sei noch einer angeführt, der wie der in Tab. IX zum Tode der Tiere ohne Bazillenvermehrung geführt hatte.

Tabelle XIII.

Als Aggressin dient das Exsudat von Meerschweinchen 56, das nach intraperitonealer Injektion mit 1 Agarkultur Kruseschen Bazillen innerhalb ca. 18 Std. gestorben war. Zur Infektion dienten die gleichen Kruseschen Bazillen.

Nr.	Aggressin	Bazillen	Tot	Bemerkungen
56	2,0 ccm ½ Std. 55 bis 60° C	⅕ Agarkultur	Nach 4 Tagen	Sektionsbefund negativ keine Auflagerung.
57	2,0 ccm	Wie Tier 56	32 Std.	Blutigee Exsudat, darin eine Anzahl, meist grofser polynukleärer Leukozyten mit Phagozytose, keine Auflagerung. Vereinzelte Bazillen.

Es scheint sonach, als ob die aggressive Wirkung zwar an sich sehr labil wäre, dafs aber ein gewisser Rest derselben einer ½stünd. Erhitzung auf 55—60° zu widerstehen vermag. Wie grofs dieser Rest ist, ist nicht leicht zu bestimmen. Es mag aber mit dieser Erscheinung zusammenhängen, dafs solche Exsudate noch zur Immunisierung geeignet sind.

Über diese, die Aggressinimmunität der Dysenterie, kann noch nicht viel ausgesagt werden, da die Versuche auch an grofsen Tieren zurzeit noch im Gange sind. Es sei aber ein vergleichender Versuch mit einem immunisierten und einem normalen Tiere ausgeführt, um das Wesen der Vorgänge, die sich in der Bauchhöhle der immunisierten Tiere abspielen, kurz zu kennzeichnen. Das Charakteristische besteht in der raschen Leukozytenansammlung, während die Bazillen selbst nur wenig von dem Körnchenzerfall zeigten, der für bakterizide Immunisierung (Kruse, Lentz, Shiga) bezeichnend ist.

(Siehe Tabelle XIV auf S. 401.)

Da sich bei den Versuchen, aggressinreiche Exsudate zu erhalten, Gelegenheit ergab, durch Bouilloneinspritzung resistent gemachte Tiere zu untersuchen, so seien einige Versuche darüber angeführt, die mit den Resultaten anderer Autoren übereinstimmen.

(Siehe Tabelle XV auf S. 401 u. XVI auf S. 402.)

Tabelle XIV.

Nr.	Vorbehandlung	Infektion	Tot	Bemerkungen
40	20. X. 04. 2,0 ccm Aggressin 2. XI. 04. 1,0 ccm Aggressin	11. XI. 04. 1 Agarkultur I. Passage Kruse	Nach 2 Tagen	Bis zu $1^1/_2$ Std. nach der Infektion vermehrten sich die Bazillen ungehindert; dann bemerkt man erst das Stehenbleiben der Bazillenvermehrung und das Auftreten von kleinen polynukleären Leukozyten. Nach $4^1/_2$ Std. findet man wenige Bazillen, die meisten in Körnchenform und massenhafte Leukozyten. Nach 7 Std. ist die Bauchhöhle voll mit reinem Eiter. Mit grofser Mühe findet man einige Granula. Dabei war das Tier schwer krank. Am nächsten Morgen hat es sich etwas erholt, doch starb es am zweiten Tage. Sektion ergab: ca. 1 ccm dickes, getrühtes Exsudat in der Bauchhöhle. Leber, Milz und Netz bedeckt mit dicken Pseudomembranen. Mikroskopisch sowie kulturell wurde die Sterilität bestätigt.
73		Wie Tier 40	Am nächsten Tag tot	Unter progressiver Vermehrung der Bazillen war das Tier am nächsten Morgen gestorben. Während des Verlaufs konstatiert man vorübergehendes, schwaches Auftreten von Leukozyten in die Bauchhöhle. Sektion ergab: ca. 5,0 ccm dünnes, aber stark getrübtes Exsudat in der Bauchhöhle. Dünne Pseudomembrane auf der Leber, Milz und Netz. Das Exsudat enthält massenhafte Bazillen und viele kleine polynukleäre Leukozyten mit schwacher Phagozytose. Ähnlichen Befund hatte die Auflagerung, nur findet man hier viele grofse polynukleäre Leukozyten.

Tabelle XV.

Zur Infektion dienten Shigasche Bazillen.

Nr.	Vorbehandlung	Infektion	Tot	Bemerkungen
33	5,0 ccm sterile Bouillon	Nach 8 Std. $1^1/_2$ Agarkultur		Am nächsten Morgen deutlich krank, aber wieder hergestellt und lebte weiter.
34	—	Wie Tier 33	+	Am nächsten Morgen tot gefunden. Massenhaft Bazillen.

Tabelle XVI.

Nr.	Vorbehandlung	Infektion	Tot	Bemerkungen
38	5,0 ccm sterile Bouillon	Nach 8 Std. 2 Agarkulturen Shigascher Bazillen	Nach 6 Tagen	Die Infektion hatte das Tier ohne wesentliche Reaktion überstanden. Erst nach 5 Tagen bemerkte man Schwäche des Tieres. Am 7. Tage trat der Tod ein. Sektion ergab: In der Bauchhöhle zwischen den Darmschlingen findet man hie und da Eiterflöckchen. Kein Exsudat. Leber und Niere zeigen starke parenchymatöse Degeneration. Keine Auflagerungen. Fibrinflöckchen enthalten nur Leukozyten. Bazillen fehlten.
39	—	Wie Tier 38	Am nächsten Morgen	Sektion: Ca. 6,0 ccm dickes, stark getrübtes Exsudat in der Bauchhöhle, reichliche Auflagerung auf Leber und Milz. Bazillen sind überall massenhaft zu finden.

Erst eine noch höhere Steigerung der Bazillenmenge vermochte endlich den akuten Tod herbeizuführen.

Tabelle XVII.

Nr.	Vorbehandlung	Infektion	Tot	Bemerkungen
42	5,0 ccm sterile Bouillon	Nach 14 Std. 4 Agarkultur Shigascher Bazillen	Nach 3 Tagen	Schon in der ersten Stunde war das Tier schwer krank und in der Bauchhöhle befanden sich zahlreiche Bazillen und relativ wenige Leukozyten. Nach 2 Std. traten Leukozyten zahlreich auf mit intensiver Phagozytose. Nach 4 Std. wurde Abnahme und Körnchenbildung der Bazillen konstatiert. Nach 10 Std. zeigte die Kapillarentnahme massenhafte Leukozyten und spärliche normale Bazillen. Am nächsten Morgen war das Tier noch schwer krank. In der Bauchhöhle waren massenhafte Leukozyten mit schöner Phagozytose. Aufser Körnchen fand man noch viele gesunde Individuen. Am Morgen des 3. Tages war das Tier gestorben. Ca. 6,0 ccm dickes, stark getrübtes Exsudat in der Bauchhöhle. Reichliche Auflagerungen auf Leber, Milz und Netz. Mikroskopisch sah man viele Bazillen und massenhafte Leukozyten mit starker Phagozytose.
43	—	Wie Tier 42	Innerhalb 12 Std.	Bazillen nahmen fortwährend zu, während die Auswanderung der Leukozyten in die Bauchhöhle fast abgehalten wurde, so dafs nach 4 Std. nur Bazillen, keine Leukozyten gefunden wurden. Am nächsten Morgen lag das Tier tot. Ca. 10,0 ccm relativ dünnes, stark getrübtes Exsudat in der Bauchhöhle. Reichliche Auflagerung auf Leber, Milz und Netz. Unzahl von Bazillen im Exsudate, sowie in den Auflagerungen. Die Formbestandteile des Exsudates sind ausschliefslich kleine, polynukleäre Leukozyten, die der Auflagerung meistens grofse, polynukleäre Leukozyten. Beide zeigten schöne Phagozytose.

Obgleich das Tier 42 schliefslich der grofsen Bakterienmenge erlegen war, so ist aus dem Kapillarbefunde dennoch die stark gesteigerte Widerstandskraft sofort zu erkennen. Die Tiere 33 und 38 beweisen, dafs auch die Vergiftung durch die aufgelösten Bazillen ganz oder teilweise paralysiert werden kann, wofür ein anderer Grund als die durch Bouilloneinspritzung hervorgerufene Hyperleukozytose nicht zu finden ist.

Giftversuche an Kaninchen.

Alle Autoren stimmen in der Angabe hoher Giftigkeit des Dysenteriebazillus für Kaninchen überein. Bereits Shiga[1]) fand, dafs Kaninchen durch sehr geringe Mengen lebender Bazillen zugrunde gingen; Lentz[2]) beobachtete bei intravenöser Injektion schon bei $^1/_{20}$ Öse lebender Bazillen Lähmungserscheinungen und Durchfälle an Kaninchen; ähnlich auch Conradi.[3])

Aus dieser Ausführung ist zu ersehen, dafs ein gelöstes Gift des Dysenteriebazillus noch nicht bekannt ist.

Ein solches, und zwar von hoher Wirksamkeit, wurde im Exsudate von Dysenteriemeerschweinchen gefunden.

Tabelle XVIII.

Das Exsudat von Meerschweinchen 9 (Tab. III) völlig klar zentrifugiert und mit Toluol sterilisiert.

Nr.	Giftdosis	Tot	Bemerkungen
3 2295 g	1,0 ccm subkutan	Nach 3 Tagen	Nach 2 Tagen trat die Lähmung auf. Sektion ergab: An der Impfstelle ist das Unterhautbindegewebe ödematös infiltriert. Kein Exsudat in der Bauchhöhle. Die Organe in Bauch- und Brusthöhle zeigen keine pathologischen Veränderungen. Mikroskopisch sowie kulturell wurde Sterilität nachgewiesen.
4 1745 g	1,0 ccm subkutan	Nach 4 Tagen	Nach 3 Tagen schon hochgradig gelähmt. Diffuse eitrig ödematöse Infiltration an Impfstelle, darin keine Dysenteriebazillen, massenhafte, teils degenerierte Leukozyten, ca. 6,0 ccm leicht getrübte Flüssigkeit in der Bauchhöhle, welche spärliche kleine polynukleäre Leukozyten und keine Bazillen enthielt. Sonst nichts zu finden.

1) Deutsche Med. Wochenschrift 1901.

2) a. a. O.

3) Veröffentlichungen aus d. Gebiete d. Militär-Sanitätswesens, H. 20, 1902.

Tabelle XIX.

Exsudat von Meerschweinchen 31, welches nach intraperitonealer Injektion mit $1^1/_2$ Agarkultur 7. Passage des Shigaschen Bazillus innerhalb ca. 18 Std. gestorben war. Das Exsndat wurde sorgfältigst bis zu voller Klarheit zentrifugiert, aber nicht sterilisiert.

Nr.	Giftdosis	Tot	Bemerknngen
5 1320 g	0,075 ccm intraven.	Nach 30 Std. tot	Am nächsten Morgen vollständig gelähmt. Sektionsbefund negativ. Kultnr blieb steril.
6 1340 g	0,25 ccm intravenös	Innerhalb 20 St. tot	Starb in der Nacht. Sektionsbefund negativ. Kultur steril.
7 1400 g	1,0 ccm intravenös	Nach 20 Std. tot	Am nächsten Morgen vollständig gelähmt. In der Bauchhöhle ca. 2,0 ccm dünner, wenig trüber Flüssigkeit mit spärlichen Leukozyten nnd Makrophagen ohne Bazillen. Alle Knlturen steril.

Die mitgeteilten Beispiele zeigen die starke Giftigkeit der Exsudate an. Zwar sind so wie im Aggressingehalt auch in bezug auf Giftigkeit nicht alle Exsudate gleich, doch kann man mit letzterer Eigenschaft weit sicherer rechnen als mit ersterer und durch Mischen einer Anzahl von Exsudaten läfst sich eine ziemlich konstante Giftlösung herstellen.

Die Krankheitserscheinungen, die durch das Dysenteriegift veranlafst werden, lassen sich leicht erkenneu. Lähmungen, die auch nach Injektion von Bazillen zu beobachten sind (Shiga, Lentz, Conradi), beherrschen das Krankheitsbild und sind bei geringer Übung nicht viel weniger leicht als die Tetanuslähmungen zu erkennen. Meist sieht man die ersten Symptome der Vergiftung, die je nach der injizierten Dosis verschieden früh einsetzen, an den Vorderbeinen. Das Tier bewegt sich sichtlich ungern; wenn es dazu gezwungen wird, hält es bald ein, wobei der Vorderkörper sich flach auf den Boden legt und die paretischen Vorderfüfse nach aufsen abgelenkt wurden; meist ist das eine stärker als das andere betroffen. Bald darauf beginnt auch die Parese der Hinterbeine. Richtet man ein Tier in diesem Stadium in seine normale, sitzende Stellung auf, so vermag es sich eine kurze Zeit in derselben zu erhalten. Dann rutschen die Vorderbeine nach aufsen, der Kopf legt sich platt auf den Boden, der

Körper sinkt auf eine Seite. Anfänglich macht das Tier noch Versuche, sich aus dieser Stellung, in die es immer zurückfällt, aufzurichten, später, mit vorschreitender Parese, treten solche Versuche nicht mehr auf. Schliefslich liegt das Tier völlig gelähmt auf der Seite. Der Kopf und namentlich die Kaumuskulatur sind anscheinend gar nicht betroffen, denn auch bereits völlig gelähmte Tiere fressen noch ohne Beschwerden, wenn ihnen ein Blatt vorgehalten wird; ein solches selbst zu erfassen fehlt natürlich die Möglichkeit. Besondere Schmerzhaftigkeit scheint nicht zu bestehen. Der Zustand der vollständigen Lähmung kann je nach der injizierten Dosis wenige Stunden bis einige Tage dauern; die Stuhlentleerung ist meist normal, selten mehr oder minder diarrhöisch. Der Tod tritt ruhig, ohne besondere Krämpfe, ein. Die Sektion ergab, abgesehen von Atrophie und Abmagerung bei längerer Krankheitsdauer, nie irgendwelche hervortretende Organveränderungen. Namentlich der Darm, auf dessen Zustand besonders geachtet wurde, liefs keinerlei Veränderungen erheblicher Art erkennen. Kulturen aus allen Organen, dem Blut und der bisweilen gefundenen Flüssigkeit in der Bauchhöhle, blieben ohne Ausnahme steril, auch dann, wenn das zur Injektion benutzte Exsudat vorher nur zentrifugiert, nicht aber sterilisiert worden war. Es handelt sich somit um reine Vergiftung.

Der grofse Unterschied im Verhalten von Meerschweinchen gegen das Dysenteriegift geht aus den früheren Tabellen ohne weiteres hervor. Kleine Dosen bis zu 1,0 ccm vertragen Meerschweinchen ohne wesentlichen Schaden subkutan und intraperitoneal. Erst grofse Mengen 2,0 ccm und darüber, können Meerschweinchen töten. Dabei treten aber keine Lähmungserscheinungen, sondern nur hochgradige Abmagerungen auf.

Übrigens gibt es auch unter Kaninchen einzelne Individuen, die eine, nur durch individuelle Disposition zu erklärende Widerstandskraft gegen das Gift zeigen. Es fand sich unter ca. 30 zur Giftbestimmung verwendeten Kaninchen eines, welches nach intravenöser Injektion einer relativ hohen Giftdosis nur ganz schwache Lähmung zeigte und erst nach langer Zeit unter Abmagerung zugrunde ging. Es zeigte also, allerdings schon

bei geringer Giftmenge, die Empfindlichkeitsstufe des Meerschweinchens. Das gleiche Gift hatte in 10fach kleinerer Dosis ein anderes Kaninchen getötet. Die folgende Tabelle, welche über dieses Tier berichtet, ist auch noch aus dem anderen Grunde wichtig, weil sie eine verschiedene Wirkung des Giftes, je nach der Wahl des Injektionsortes zeigt.

Tabelle XX.

Exsudat des Meerschweinchens 45, das nach intraperitonealer Injektion von 3 Agarkulturen des Shigaschen Bazillus innerhalb 15 Std. gestorben war. Toluolsterilisation.

Nr.	Giftdosis	Tot	Bemerkungen
13 1420 g	0,01 ccm intravenös	3 bis 4 Tage	Am 2. Tage trat Lähmung der Vorderbeine und Parese der Hinterbeine auf. Am 3. Tage war die Lähmung vollständig. Der Tod trat in der Nacht vom 3.—4. Tage auf. Das Sektionsergebnis war negativ.
14 1470 g	0,01 ccm intrapleural		Am 4. Tage schien eine geringe Schwäche der Vorderfüfse zu bestehen, die aber rasch verschwand. Nach 6 Tagen war auch wieder das frühere Gewicht erreicht.
15 1470 g	0,1 ccm intravenös	32 Tage	Das Tier war erst am 2. Tage undeutlich, am 3. Tage deutlich paretisch, erholte sich aber vor der Lähmung sehr rasch, so dafs am 5. Tage nichts mehr zu bemerken ist. Dagegen ist sein Gewicht auf 1200 g gesunken, schwankt dann immer und erreicht den höchsten Stand nach 23 Tagen mit 1340 g. Von da rascher Gewichtsverlust bis zum Tode am 32. Tage. Aufser starker Abmagerung negativer Sektionsbefund.
16 1605 g	0,1 ccm intrapleural		Am 3. Tage Parese an den Vorderfüfsen, die bereits am 4. Tage zurückging und am 5. Tage verschwand. Das Gewicht war bis auf 1490 g gesunken, hob sich aber rasch und übertraf nach 12 Tagen den früheren Stand.

Die hier hervortretende, fast konstante Tatsache, dafs das Dysenteriegift bei intrapleuraler Injektion schwächer wirkt als bei intravenöser und subkutaner, bildet noch andauernd das Objekt eingehender Studien, die nicht nur an sich, sondern auch in bezug auf die Immunisierungsverhältnisse von Wichtigkeit sind.

Sie kann kaum anders als durch eine Intervention von Leukozyten erklärt werden, welche zur Giftzerstörung oder zur Gift-

beseitigung Beziehungen hat, eine Annahme, welche von Metschnikoff schon vor längerer Zeit gemacht und durch Besredka und Marie experimentell untersucht wurde. Die Bedingungen für ein Zuströmen von Leukozyten in die Kaninchenbrusthöhle sind sehr günstige. Denn die kleinen, hier angewendeten Mengen des aggressin- und gifthaltigen Exsudates besitzen keine Leukozyten abhaltende Wirkung mehr. Im Gegenteile scheint sogar, wie bei anderen chemotaktisch wirkenden Stoffen, mit Verkleinerung der Dosis eher eine Leukozytenanlockung zu erfolgen. Wie die angesammelten Zellen wirken, ob es sich um eine Giftzerstörung handelt, oder um eine so langsame Resorption, dafs dadurch akute Vergiftungserscheinungen verhindert werden, liefs sich noch nicht feststellen und mufs späteren Veröffentlichungen vorbehalten bleiben. Natürlich gilt die Widerstandskraft von Kaninchen bei intrapleuraler Injektion von Gift nur für verhältnismäfsig kleine, wenn auch bereits mehrfach tödliche Doseu. Steigerung über ein gewisses Mafs hinaus verwischt die Unterschiede gegen eine andere Impfungsart mehr weniger vollständig.

Was die Widerstandskraft des Giftes gegeu die Temperatur von ca. 60° C. betrifft, so ist für die folgenden Versuche zu bedenken, dafs noch keine konstante Giftlösung benutzt wurde, sondern das Exsudat von verschiedenen Tieren. Es ist sehr wahrscheinlich, dafs mit dem Vorhandensein grofser Giftmengen auch die Widerstandskraft gröfser wird, so dafs ½ stündige Erwärmung auf ca. 60° nur einen Teil des Giftes zerstört.

Tabelle XXI.

Exsudat des Meerschweinchens 43, das nach Injektion von 4 Kulturen Shigascher Bazillen innerhalb ca. 15 Std. gestorben war. Toluolsterilisation.

Nr.	Giftdosis	Tot	Bemerkungen
11 2220 g	1,0 ccm intravenös	Innerhalb 12 Std.	Organe ödematös. In der Bauchhöhle etwa 5,0 ccm klarer Flüssigkeit. Alle Kulturen steril.
12 2110 g	1,0 ccm ½ Std. 55—60° intravenös	Nach 2 Tagen tot	Nach 24 Std. Lähmung, die rasch fortschreitet und in der Nacht zum 2 Tage zum Tode führt. Sektionsergebnis negativ.

Tabelle XXII.

Exsudat des Meerschweinchens 47, das nach Impfung mit 3 Agarkulturen Shigascher Bazillen innerhalb ca. 15 Std. gestorben war. Toluolsterilisation.

Nr.	Giftdosis	Tot	Bemerkungen
19 1550 g	0,1 ccm intravenös	†	Am nächsten Tage vollständige Lähmung. Tot am Abend. Sektionsergebnis negativ.
18 1430 g	0,1 ccm 1/2 St. 55-60° C erhitzt intravenös	†	Am nächsten Morgen vollständige Lähmung. Tot um 10 Uhr vormittags. Sektionsergebnis negativ.

Bei diesen beiden Versuchen kann es sich nur um eine ganz unwesentliche Giftabschwächung gehandelt haben.

Anders bei den folgenden, wo aber auch die Giftigkeit deutlich geringer war.

Tabelle XXIII.

Exsudat des Meerschweinchens 79, das nach intraperitonealer Injektion mit 1 Agarkultur Krusescher Bazillen innerhalb 15 Std. gestorben war. Toluolsterilisation.

Nr.	Giftdosis	Tot	Bemerkungen
22 1340 g	0,1 ccm intravenös	†	Am Nachmittage des 2. Tages Parese, die sich am nächsten Tage zur vollständigen Lähmung steigert. Tot nach 48 Std. Sektionsergebnis negativ.
21 1265 g	0,1 ccm 1/2 St. 55-60° C intravenös		Zeigte nach 2 Tagen geringe Parese, die rasch zurückging; nach 10 Tagen war das Anfangsgewicht erreicht.

Tabelle XXIV.

Exsudat des Meerschweinchens 50, das nach Aggressinbazillenimpfung in $9^1/_2$ Std. gestorben war, ohne daſs sich die Bazillen in der Bauchhöhle vermehrt hatten.

Nr.	Giftdosis	Tot	Bemerkungen
17 1060 g	0,1 ccm intravenös	†	Das Tier zeigte 1 Woche lang keine Erscheinungen, dann tritt die typische Lähmung auf, die sehr langsam zunimmt und nach 12 Tagen den Tod herbeiführt.
16 1315 g	0,1 ccm 1/2 Std. 55—60° C erwärmt intravenös		Zeigt am 6. Tage eine gewisse Schwäche des Vorderkörpers, die am nächsten Tage nicht mehr zu bemerken ist. Keine Gewichtsabnahme.

Es mufste von Interesse sein, die Wirkung des Exsudates auf Kaninchen in bezug auf sein Gift und auf Meerschweinchen hinsichtlich seiner Aggressinwirkung zu vergleichen.

Hier ist besonders das Verhalten des Exsudates von Meerschweinchen 50 zu erwähnen, das seiner ganzen Entstehungsart nach gar kein Aggressin enthalten konnte und in der Dosis von 1,2 ccm erhitzt und nicht erhitzt mit $^1/_5$ Agarkultur die Meerschweinchen 51 und 52 nicht im geringsten zu schädigen, gleichwohl aber mit 0,1 ccm Kaninchen langsam zu töten vermochte. Aber auch das Exsudat vom Meerschweinchen 47, das so aufserordentlich giftig für Kaninchen war, enthielt in der Menge von 1,2 ccm so wenig Aggressin, dafs es mit $^1/_5$ Kultur ein Meerschweinchen 54 von 160 g nur vorübergehend krank machte und eine längere Entkräftung mit schliefslicher Erholung herbeiführte.

Das Fehlen aggressiver Eigenschaften bei hervortretender Giftigkeit eines Exsudates, sowie die viel stärkere Schädigung der ersteren beim Erwärmen auf 60° C., bildet einen Hauptgrund dafür, Gift und Aggressinwirkung vorläufig wenigstens als im Exsudate nebeneinander vorhanden anzunehmen.

Die Frage, woher das Gift im Exsudate stammt und wie es gebildet wird, ist nicht ganz leicht zu beantworten. Zweifellos spricht sehr viel, vor allem schon die Ähnlichkeit des Krankheitsbildes bei geeigneter Impfart für das Vorhandensein von gelösten Bazillenendotoxinen, nicht minder die Erscheinung, dafs mit Bazillen vorbehandelte Tiere nachher auch gegen das im Exsudat enthaltene Gift widerstandsfähig werden. Immerhin ist die Wirkung des Exsudats oft eine so starke (0,01 ccm!), dafs sie in keinem richtigen Verhältnisse zu der Zahl der Bazillen steht, die bei gleicher intravenöser Injektion Kaninchen töten. Es wäre also denkbar, dafs es sich neben der gelösten giftigen Bazillensubstanz noch um ein echtes, gelöstes Gift handeln kann.

Tabelle XXV.

Exsudat des Meerschweinchens 39, das nach intraperitonealer Injektion von 2 Agarkulturen Shigascher Bazillen innerhalb 15 Std. gestorben war. Das Exsudat wurde völlig klar zentrifugiert aber nicht sterilisiert. Der gröfsten-

teils aus Bazillen bestebende Bodensatz wurde nacb Aufschwemmung im wenig sterilen destillierten Wässer znr Entfernung der Zellen dnrch Papier filtriert, mit physiologiscber Kochsalzlösung gewascben und in zwei Hälften geteilt.

Tiere	Injiziert	Tot	Bemerknngen
Meerscbweinchen 40	2,0 ccm klares Exsudat intraperitoneal		Bleibt ohne besondere Gewicbtsabnahme nnd Krankheit am Leben.
Kaninchen 9	2,0 ccm klares Exsudat intrapleural	†	Am Abend des nächsten Tages tritt Lähmnng auf, am 2. Tage ist sie vollständig, wobei bemerkenswert ist, dafs die Seite der Injektion stärker als die andere betroffen war. In der Nacht starb es. Die Sektion ergab in der Brustböhle ca. 1,0 ccm trübes, etwas blutiges Exsudat mit viel grofsen und kleinen polynnkleären Leukozyten nnd Makrophagen. Reichlicbe eitrige Anflagerungen auf Pleura und Lunge, aus stark degenerierten Leukozyten bestehend. Bazillen fehlten vollständig und Kultur blieb steril. Sonst keine Besonderheit.
Meerscbweinchen 41	Die Hälfte gewaschenen tierischer Bazillen intraperitoneal	†	Das Tier starb nach ca. 16 Std., enthielt in der Bauchhöhle 2,0 ccm Exeudat mit kleinen polynukleären Zellen und Lympbozyten; erstere zeigten sehr spärlicbe Granulapbagozytose. Bazillen wurden nicbt gefunden. Die Knltur auf Scbiefagar ergab vereinzelte Kolonien. Die ziemlich gut entwickelten Auflagerungen anf Leber und Milz zeigten den gewöhnlichen Befund grofser polynukleärer Zellen mit sehr spärlicher Phagozytose. Bazillen fehlten.
Kaninchen 10	Wie Meerschweinchen 41, aber Intrapleural	†	Nach 2 Tagen trat Läbmnng auf, am Nachmittag des 3. Tages starb das Tier. In der Brusthöhle ca. 3,0 ccm dicbt trübes und blutiges Exsudat, welches ebenso wie die reicblicben Auflagerungen auf Lunge und Brustfell degenerierte Leukozyten aber keine Bazillen enthält. Kultur auf schiefem Agar lieferte wenige Kolonien. Sonst keine Besonderheit.

Was in diesem Versuch besonders auffällt, ist das verschiedene Verhalten von Meerschweinchen und Kaninchen.

Die injizierten Bazillen vermochten sich weder im Kaninchen noch im Meerschweinchen zu halten, waren aber giftig genug, um beide Tiere zu töten. Hingegen hatte das flüssige Exsudat auf das kleine Meerschweinchen 40 (180 g) überhaupt keine Wirkung ausgeübt. Es fällt da schwer, anzunehmen, dafs die Giftwirkung des Exsudates nur von aufgelösten Bazillen herrührt.

In bezug auf Immunisierung durch Aggressin mögen noch einige kurze Andeutungen folgen. Es ist nicht schwer, durch wiederholte Einspritzung von sterilisierten, aggressinhaltigen Exsudaten subkutan oder intraperitoneal Meerschweinchen gegen intraperitoneale Infektion mit tödlichen und übertödlichen Bazillenmengen zu schützen. Bei Beobachtung mittels der Issaeffschen Methode fällt dabei vor allem das rasche Eintreten von Leukozyten in der Bauchhöhle auf, das bereits nach $1^1/_2$ bis 2 Stunden hohe Grade annimmt. Von einer Abnahme der Bazillen ist bis zu dieser Zeit nichts zu sehen, es scheint sogar Vermehrung geringen Grades stattzufinden. Erst mit Hinzutreten der Leukozyten vermindert sich die Bazillenzahl (s. Tab. XIV). Es ist hingegen sehr schwer und bedarf langer Zeit und vorsichtigster Beobachtung, Tiere zu erhalten, die ein schützendes Serum liefern.

Kaninchen gegen die Giftwirkung zu schützen ist weit leichter und es kann schon eine einmalige intrapleurale Einspritzung des Giftes genügen, um nachher gegen die intravenöse Injektion der sicher tödlichen Dosis vollständig zu schützen.

Zum Schlufs erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Hueppe und Herrn Professor Bail für liebenswürdiges Entgegenkommen und Leitung bei dieser Arbeit meinen besten und verbindlichsten Dank auszusprechen.

Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Hühnercholera.

Von

Dr. Edmund Weil,
gew. Assistenten am patholog.-anatom. Institute.

Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.

(Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.)

Die Arbeiten über Hühnercholera in der letzten Zeit verfolgten hauptsächlich den Zweck, empfängliche Tiere entweder aktiv zu immunisieren oder fafsten den praktischen Gesichtspunkt ins Auge, indem sie ein gegen diese verheerende Seuche wirksames Schutzserum herzustelleu sich bemühten. Ersteres ist nur unvollkommen, letzteres gar nicht gelungen. Die nachstehenden Untersuchungen sollten den Zweck haben, die von Bail in der vorangehenden Arbeit ausgeführten und in früheren Publikationen angedeuteten Theorien an dem Erreger der Hühnercholera iu Anwendung zu bringen. Die von Hueppe studierten Hühnercholerabakterien wurden aus dem Grnnde gewählt, weil wir es hier mit einem echten Parasiten für Kaninchen und Vögel, welche Tiere hauptsächlich in den Rahmen dieser Untersuchungen gezogen wurden, zu tun haben. Unter echten Parasiten verstehen wir jene Mikroorganismen, bei denen, um ins Extrem zu gehen, ein einziger genügt, das Tier zu töten. Für Hühnercholera speziell hat Val. Staug nachgewiesen, dafs der 0,000001. Teil einer

Bouillonkultur, das sind 1—6 Bazillen, ausreichten, den Tod bei Kaninchen herbeizuführen.

Nach der Theorie Bails müssen die Mikroorganismen, um im Tierkörper ihre volle Wirkung enthalten zu können, befähigt sein, die Schutzkräfte, über die der Organismus verfügt, lahm zu legen, sie müssen Stoffe produzieren, welche die Schutzwebren des Organismus mit Erfolg angreifen und überwältigen. Diese Stoffe nennt Bail Angriffsstoffe, Aggressine. Die Aggressine bewirken zunächst, dafs sich die Bakterien, es seien hier speziell die Erreger der Hühnercholera ins Auge gefafst, an der Stelle der Infektion ins unendliche vermehren, die ihnen etwa entgegengestellten Schranken durchbrechen, in die Gewebssäfte des Tierkörpers übergehen, ihn vollständig überschwemmen und zugrunde richten. Ist die Aggressinbildung eine gar zu intensive, so wird der Organismus nicht einmal imstande seiu, seine Schutzkräfte entfalten zu können, was bei der Hühnercholera der Fall zu sein sein scheint. Da die Aggressine Kampfmittel sind, so werden sie wohl dort im stärksten Mafse gebildet werden, wo die Bakterien den stärksten Kampf zu bestehen haben, wo sie sich am meisten wehren müssen, und dort werden sie auch am leichtesten aufgesucht werden können. Das ist die Stelle der Infektion. So konnte Bail bei Milzbrand das Aggressin, das dort Lysin im Sinne Kruses genannt ist, am leichtesten im Ödem an der Injektionsstelle nachweisen. Bei Hühnercholera tritt ebenfalls bei Kaninchen bei subkutaner Infektion ein Infiltrat auf; da dasselbe jedoch nur wenig Flüssigkeit lieferte, wurde das Pleuraexsudat, das bei intrapleuraler Injektion erzielt wurde, zum Nachweis der Aggressine gewählt.

Zur Infektion wurden ausschliefslich Bouillonkulturen benutzt. In diesem Nährboden wuchsen die Hühnercholerabazillen bei ganz leicbter Trübung derselben innerhalb 24 Stunden. Die Trübung nahm bei längerem Wachstum bei Bruttemperatur nicht wesentlich zu, so dafs eine ganze Bouillonkultur nur sehr wenig Bakterienmaterial lieferte, worauf es allerdings auch gar nicht ankam. Die intrapleurale Infektion auch mit den allergeringsten Bakterienmengen tötet Kaninchen in 5—8 Stunden. Die Menge

des Exsudats, das die Tiere liefern, ist sehr ungleich; leider konnte nicht eruiert werden, wovon dieselbe abhängig ist; es hat jedoch den Anschein, dafs man, um viel Exsudat zu erzielen, die Infektion mit einer sehr geringen Bakterienmenge vornehmen mufs. Die Infektion und die Gewinnung des Exsudats wurde immer in derselben Art und Weise vorgenommen und sei in folgendem an einem Kaninchen erläutert.

Kaninchen.

6 Uhr abends: 1 Tropfen Bouillonkultur in 5 ccm steriler Bouillon aufgeschwemmt, intrapleural injiziert. Stirbt in der Nacht.

In der Brusthöhle 27 ccm Exsudat.

Dieses Tier lieferte reichlich Exsudat, es ist wohl die Grenze dessen, was man von einem Kaninchen erwarten darf; man mufs sich häufig mit einer Menge von 5 ccm begnügen. Das durch die intrapleurale Injektion erlangte Exsudat ist zähe, dickflüssig und ungemein trüb. Die mikroskopische Untersuchung des Aufstriches zeigt, dafs die Trübung fast ausschliefslich von den Bakterien herrührt, die sich in enormen Mengen im Exsudat vorfinden, Leukozyten und andere Zellen sind ungemein spärlich sowohl im Aufstrich als auch im Zentrifugate nachzuweisen, eine Phagozytose wurde nie beobachtet.

Es sei hier auf die ungeheuer intensive Vermehrung der Bakterien im Tierkörper in der kurzen Zeit von z. B. 5 Stunden hingewiesen. Während nach dieser Zeit in der Bouillon noch keine Spur von Wachstum nachzuweisen ist, erst, wie erwähnt, nach 24 Stunden eine ganz leichte Trübung, sind im Tierkörper während der kurzen Zeit schon so enorme Mengen von Bakterien aufgetreten, dafs die dicke Trübung des Exsudats ausschliefslich von den Bakterien herrührt, ferner das Blut und die übrigen Gewebssäfte Bakterien in ungeheuren Mengen enthalten. Es ist wohl sehr naheliegend, dafs die Aggressinbildung die Bakterien zu der schrankenlosen Vermehrung befähigt. Dies ist auch der Grund, weshalb die Aggressine an der Stelle der stärksten Vermehrung der Bakterien aufgesucht wurden. In unseren Versuchen ist dieser Ort das ungemein bakterienhaltige Exsudat der Brusthöhle.

Es tritt auch bei subkutauer Infektion bei Kaninchen manchmal sehr reichliche Flüssigkeitsmenge in Pleura- und Peritonealhöhle auf, welche jedoch im Gegensatz zu der bei intrapleuraler Injektion erzielteu fast klar ist und nur äufserst wenige Bakterien enthält. Diese Flüssigkeit wurde nie zum Aggressiunachweis gewählt und zwar aus dem leicht begreiflichen Grunde, weil sie nur ein Transsudat zu sein scheint und eine Vermehrung der Bakterien in ihr nicht stattgefunden hat, sie also der Hauptforderung, die zum Vorhandensein der Aggressine gestellt werdeu mufs, uicht entspricht. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, dafs auch diese Flüssigkeit, sowie auch das Blut, in geringem Grade aggressive Eigenschaften besitzt.

Von den Forderuugen, die Bail zum Nachweis der Aggressine bei Typhus und Cholera aufstellt, konnten zu diesen Untersuchungen nur zwei herbeigezogen werden, und zwar erstens, dafs Bakteriendosen, die an und für sich nicht tödlich sind, im Verein mit dem aggressinhaltigen Exsudat den Tod herbeiführen, und zweitens, dafs durch Behandlung mit aggressinhaltigem Exsudat Immunität erzielt wird, die von der bakteriziden verschieden ist. Im folgenden sei versucht, diese beiden Punkte durchzuführen.

Bei den Versuchen, die den ersten Punkt beweisen sollten, mufsten Kaninchen schon vou vornherein ausgeschlossen werden. Diese Tiere sind für die Hühnercholera so empfänglich, dafs es untertödliche Dosen für sie überhaupt nicht gibt. Bei der ungeheuren Virulenz uuseres Stammes, durch Tierpassagen überdies gesteigert, reichten die minimalsten Mengen, selbst in abgeschwächtem Zustande aus, die Tiere von der Subcutis in längstens 24 Stundeu zu töten; dann kommen bei Tieren, die mit den gleichen Mengen geimpft wurden, Differenzen bis 8 Stunden in bezug auf den Eintritt des Todes vor, so dafs aus einem zeitlichen Unterschied in bezug auf die Lebensdauer hei Aggressinanwendung nicht mit Sicherheit Schlüsse gezogen werden konnteu.

Es mufsten also zu dem Behufe Tiere gewählt werden, welche gegen Hühnercholera eine gewisse Resistenz zeigten, und da erschien als geeignetstes Versuchstier das Meerschweinchen. Meer-

schweinchen von 400 g an reagieren auf Injektion von kleinen Bakteriendosen subkutan nur mit lokalen Erscheinungen, mit Infiltraten und Abszessen. Kleine Meerschweinchen gehen auch bei der subkutanen Injektion prompt ein, die intraperitoneale Infektion tötet kleine wie grofse Meerschweinchen mit Sicherheit. Die Angaben, dafs Meerschweinchen überhaupt gegen Hühnercholera natürliche Immunität aufweisen, beziehen sich nur auf die betreffenden Stämme und haben keine allgemeine Gültigkeit. Für besonders virulente Stämme, wie für den unsrigen, oder z. B. den, den Tjaden in der Hand hatte, kann dieser Satz keine Anwendung finden. — Um den Tieren das aggressinhaltige Pleuraexsudat einzuverleiben, mufste dasselbe selbstverständlich von den in ihm befindlichen Bazillen befreit werden. Für die Hühnercholeraexsudate erwies sich folgendes Verfahren als am brauchbarsten: Das bakterienhaltige trübe Exsudat wurde durch Zentrifugieren, dem eventuell eine Papierfiltration voranging, geklärt. Dann Zusatz von $\frac{1}{2}$% Karbolsäure, was jedoch vorteilhaft vor dem Zentrifugieren geschehen kann, welch letzteres dann erheblich schneller vor sich geht. Hierauf ist es notwendig, noch 3 Stunden auf 44° zu erwärmen, welche Temperatur jedoch unter keiner Bedingung überschritten werden darf, damit die Wirkung der Aggressine, welche vielleicht schon bei 44° wenn auch nicht erheblich, so doch etwas beeinträchtigt zu werden scheint, keinen Schaden nehme. In den meisten Fällen ist das Exsudat hierauf steril. Es mufs jedoch sorgsamst auf seine Sterilität geprüft werden, indem man eine gröfsere Menge in Bouillon überimpft und 48 Stunden lang beobachtet. Ist nach dieser Zeit keine Trübung in der Bouillon eingetreten, so kann man wohl mit Sicherheit auf die Sterilität rechnen. Durch die Erwärmung auf 44° kommt es manchmal durch Eiweifsausfall, wahrscheinlich durch den Karbolzusatz, zur nachherigen Trübung des Exsudats, was jedoch für die Wirksamkeit desselben keine Bedeutung zu haben scheint. Chloroform, Äther und Toluol haben sich zur Sterilisierung nicht bewährt. Das so behandelte Exsudat wurde nun zu den Meerschweinchenversuchen verwendet, um die aggressive Wirkung desselben zu erweisen. Im folgenden seien

die Versuchsprotokolle aller hierüber angestellten Versuche mitgeteilt.

1. Versuch.

Meerschweinchen I.

$2^1/_2$ ccm Kochsalzlösung, darin 2 Tropfen tierischer Bazillen, die, um sie von dem anhaftenden Exsudat zu befreien, zweimal in Kochsalzlösung gewaschen sind, aufgeschwemmt, subkutan.

Nächster Tag: Scharf begrenztes, haselnufsgrofses Infiltrat.

Tier lebt nach 2 Monaten, gesund. Infiltrat nekrotisch.

Meerschweinchen II.

$2^1/_2$ ccm sterilisierten Kaninchenexsudats, darin 2 Tropfen Bazillenemulsion, wie oben behandelt, aufgeschwemmt.

Nächster Tag: Sehr starkes, bis zur Achsel reichendes Infiltrat. Stirbt nach 24 Std.

Sektion: Ein die ganze Bauch- und Brustseite einnehmendes, sulziges, zum Teile derbes Infiltrat.

Mikroskopisch im Aufstrich vom Infiltrate massenhaft Bazillen, wenige Zellen, keine Phagozytose.

Aus dem Herzblute mikroskopisch und kulturell Bazillen.

Während also Meerschweinchen I die Infektion übersteht und nur lokal reagiert, geht Meerschweinchen II, das die Bazillen im Exsudat aufgeschwemmt erhalten hat, ein, wohl ein sicherer Beweis für die aggressiven Eigenschaften des Kaninchenexsudats.

2. Versuch.

Meerschweinchen III. 150 g.

$1^1/_2$ ccm Kochsalzlösung, darin aufgeschwemmt 2 Tropfen tierischer Bazillen, die wie im vorhergehenden Versuche behandelt sind, subkutan. Stirbt nach 43 Std.

An der Injektionsstelle ausgebreitetes Infiltrat. Mikroskopisch zahlreiche Bazillen.

Meerschweinchen IV. 180 g.

$1^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat + 2 Tropfen Bazillen, wie oben. Stirbt nach 29 Std.

An der Injektionsstelle ausgebreitetes sulziges Infiltrat.

Mikroskopisch wie oben.

Meerschweinchen V. 200 g.

$1^1/_2$ ccm klar zentrifugiertes nicht sterilisiertes Kaninchenexsudat + 1 Tropfen Tierbazillen, wie oben. Stirbt nach 17 Std.

An der Injektionsstelle sehr stark ausgebreitetes Infiltrat.

Mikroskopisch zahlreiche Bazillen.

Wie aus diesem Versuche ersichtlich ist, gingen alle drei Tiere ein, auch dasjenige, welches nur Bazillen erhalten hatte. Es ist eben die Virulenz unseres Stammes eine so bedeutende, dafs, wie schon im vorangehenden erwähnt, kleine Tiere auch der subkutanen Infektion erliegen und das Kontrolltier wurde absichtlich als kleinstes gewählt. Es ist jedoch der Unterschied in Zeit des Eintrittes des Todes in bezug auf das Tier, welches nur Bazillen, sterilisiertes und nicht sterilisiertes Exsudat bekommen hatte ein so auffälliger und regelmäfsiger, dafs auch hier die Wirkung des Aggressins deutlich hervortritt. Weiter ist aus diesem Versuche zu entnehmen, dafs die mit der Sterilisierung verbundene Erwärmung auf 44° die Wirkung des Exsudats abschwächt. Beim Meerschweinchen V wurde aus dem Grunde nur 1 Tropfen Bazillen aufgeschwemmt, weil das klar zentrifugierte Exsudat immerhin noch Bazillen enthielt, wenn auch nicht den 10. Teil der Menge, die einem Tropfen der Bazillenemulsion entspricht.

3. Versuch.

Meerschweinchen VI.

1½ ccm Kochsalzlösung subkutan. 1 Std. später ½ Öse Kulturbazillen subkutan.

Nächster Tag: Hartes, abgegrenztes Infiltrat.

Nach 4 Wochen: Tier gesund, Infiltrat nekrotisch.

Meerschweinchen VII.

1½ ccm sterilisiertes Meerschweinchenexsudat subkutan. 1 Std. später ½ Öse Kulturbazillen.

Nächster Tag: Weiches, nicht abzugrenzendes Infiltrat an der Injektionsstelle. Tier deutlich krank.

Infiltrat breitet sich aus, das Tier magert stark ab. Stirbt nach 4 Tagen.

An der Injektionsstelle mikroskopisch zahlreiche Bazillen, ebenfalls im Herzblute mikroskopisch und kulturell.

Meerschweinchen VIII.

1½ ccm sterilisiertes Meerschweinchenexsudat subkutan.

Nächster Tag: Keinerlei Erscheinungen an der Injektionsstelle.

Nach 4 Wochen: Tier gesund.

In diesem Versuche wurde Meerschweinchenexsudat verwendet, um es auf seine Aggressivität hin zu untersuchen. Bei

der intraperitonealen Infektion gehen Meerschweinchen, wie erwähnt, prompt zugrunde und in der Bauchhöhle derselben findet man ein zähes, dickes, ungemein trübes Exsudat, das, wie die mikroskopische Untersuchung lehrt, ausschliefslich aus Bazillen besteht, also den Bedingungen, die für die Aggressivität eines Exsudates notwendig sind, vollkommen entspricht. Dieses Exsudat wurde auf dieselbe Weise wie Kaninchenexsudat sterilisiert und zeigte sich auch hier die ganz deutliche aggressive Wirkung, indem das Meerschweinchen VII unter stetiger Zunahme der Erscheinungen nach vier Tagen zugrunde ging. Das Meerschweinchenexsudat allein ist, wie Meerschweinchen VIII zeigt, vollkommen unschädlich.

4. Versuch.

Meerschweinchen IX.

4 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal. 1 Std. später 1 Tropfen Bazillen subkutan.

Nächster Tag: Haselnufsgrofses derbes Infiltrat. Infiltrat wurde nekrotisch, Tier lebt, gesund.

Meerschweinchen X.

4 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat intraperitoneal. 1 Std. später 1 Tropfen Bazillen subkutan. Stirbt nach 22 Std.

An der Injektionsstelle diffuses blutiges Ödem. In der Bauchhöhle 2 ccm dicken, trüben Exsudats. Reichliche Auflagerungen auf Leber, Milz und Darm.

Mikroskopisch im Infiltrate zahlreiche Bazillen. Im Exsudat und in den Auflagerungen enorme Mengen von Bazillen, wenige Zellen, keine Phagozytose.

Hier wurde eine gröfsere Menge Kaninchenexsudats (4 ccm) verwendet und zwar zeitlich und örtlich getrennt von den Bazillen, indem letztere eine Stunde später subkutan, während ersteres intraperitoneal injiziert wurde. In diesem Versuche tritt die Wirkung des Aggressins am klarsten hervor. Dabei ist auffällig, dafs das mit Exsudat intraperitoneal behandelte Tier denselben Sektionsbefund bot, als ob es intraperitoneal infiziert worden wäre, da die Veränderungen an Stelle der Infektion zwar eine ganz deutliche Progression in der Form des diffusen Ödems zeigten, die eigentliche Vermehrung der Bazillen sich jedoch in der Bauchhöhle abgespielt hatte. Es wäre vielleicht nach diesem

Befunde daran zu denken, dafs das intraperitoneal injizierte Exsudat nicht steril gewesen wäre und das Meerschweinchen noch lebende Bazillen erhalten hätte, welche die Veränderungen in der Bauchhöhle gesetzt hatten. Sprach schon mit grofser Wahrscheinlichkeit der Umstand dagegen, dafs die Kultur zwei Tage steril geblieben war, so konnte dieses Bedenken mit vollster Sicherheit dadurch ausgeschlossen werden, dafs mehrere Kaninchen, die behufs Immunisierung mit demselben Exsudate die erste Injektion bekommen hatten, keinerlei Erscheinungen zeigten. Letzteres wäre wohl sicherlich der Fall gewesen, wenn das Exsudat noch lebende Bazillen enthalten hätte, wo sicherlich ein einziger genügt hätte, im Vereine mit dem Aggressin das Tier zu töten; denn anläfslich einer früheren Immunisierung wurden zwei Kaninchen, die Exsudat erhalten hatten, das nach der üblichen Weise sterilisiert worden war, wo auch die Kultur, die allerdings nur 24 Stunden beobachtet wurde, steril geblieben war, in 12 Stunden getötet, und an der Injektionsstelle waren zahlreiche Bazillen nachweisbar. Also waren die enorm abgeschwächten Bazillen in Verbindung mit dem aggressiven Exsudat noch befähigt, die Tiere akut zu töten. Übrigens macht auch, wie wir sehen werden, der folgende Versuch, der dasselbe Bild bot, den obigen Einwand zunichte.

Man mufs sich also vorstellen, dafs das intraperitoneal eingespritzte Aggressin in die Säfte gelangt, die Bazillen an der Injektionsstelle zur Vermehrung befähigt, welche dann selbst in die Körpersäfte des Tieres übergehen, und in der Peritonealhöhle, wo durch die Injektion des aggressiven Exsudats die Schutzkräfte wohl am meisten gelähmt waren, zur schrankenlosen Entwicklung gelangt waren.

Dem folgenden Versuche mögen einige Worte vorangehen. Wie schon Pasteur nachgewiesen hat, bleiben die Hühnercholerabazillen noch nach Wochen am Infektionsorte am Leben und gelingt es mit diesen, Tiere zu töten. Es mufste also die Möglichkeit vorhanden sein, dafs man Meerschweinchen, die die Infektion mit Hühnercholerabazillen überstanden hatten, hinterher durch Injektion aggressinhaltigen sterilen Exsudats tötet, da

doch die Bazillen im Infiltrate noch lebend sind. Gelingt dieser Versuch, so spricht derselbe wohl am beweisendsten für die aggressive Natur des Kaninchenexsudats. Zu dem Zwecke wurde das Meerschweinchen IX verwendet, das, vor acht Tagen infiziert, die Infektion vollständig überstanden hatte, indem das Infiltrat schou nekrotisch zu werden begann.

5. Versuch.

Meerschweinchen IX. (Siehe Seite 419.)

Infektion mit Hühnercholerabazillen vor 8 Tagen.

An der Injcktionsstelle Infiltrat, das nach aufsen durchgebrochen ist und nekrotisch zu werden beginnt.

$3^1/_2$ ccm steriles Kaninchenexsudat intraperitoneal.

Nächster Tag: Tier schwer krank. Stirbt in der Nacht.

Sektionsbefund: An der Injektionsstelle der Bazillen im Zentrum gelbes, eiterartiges, derbes zum grofsen Teile nekrotisches Infiltrat, welches umgeben ist von einer ca. $^1/_2$ cm breiten Zone hämorrhagischen Infiltrates. Daran schliefst sich sulziges, blutiges Ödem, das gegen die Leiste sehr stark wird und bis in den Unterschenkel reicht. In der Brust- und Bauchhöhle dicke, trübe eiterähnliche Flüssigkeit. Lunge, Perikard, Zwerchfell, Leber, Darm und Netz mit gelblich weifsen Auflagerungen bedeckt.

Mikroskopisch finden sich im Aufstrich vom alten Infiltrate ungemein spärliche, im frischen Ödem zahlreiche, im Peritoneal- und Pleuraexsudate und in den Auflagerungen enorme Mengen von Bazillen, sehr wenige Zellen, keine Phagozytose. Aus dem Herzblute mikroskopisch und kulturell Bazillen.

Meerschweinchen XI.

$3^1/_2$ ccm steriles Kaninchenexsudat intraperitoneal.

Nächster Tag: Tier munter, zeigt gar keine Erscheinungen.

Nach mehreren Wochen Tier gesund.

Ganz der Voraussetzung gemäfs erlag das Meerschweiucheu IX der nachherigen Injektion des aggressiveu, bakterieufreieu Kaninchenexsudats, und zwar läfst sich, wie aus dem Sektionsbefunde ersichtlich ist, der ganze Prozefs ganz klar anatomisch feststellen. Das derbe, nekrotische Infiltrat im Zentrum rührt von der vor acht Tagen stattgefundenen Infektion her. Die hämorrhagische Zone in der Peripherie deutet die frische Progression des Prozesses an, der in der Form des blutigen, sulzigen Ödems nach allen Richtungeu hin fortschreitet. Noch klarer tritt das ganze Bild durch die histologische Untersuchung an Schnittpräparaten hervor. Das Zentrum weist nur nekrotisches Gewebe mit

schlecht färbbaren und zerfallenen Leukozytentrümmern auf. Am Rande findet sich frische Infiltration und ausgedehnte Hämorrhagie gegen die Fläche hin. Gegen die Tiefe findet man stark ausgedehnte, mit Blut strotzend gefüllte Kapillaren. Zur Hämorrhagie ist es gegen die Tiefe hin noch nicht gekommen, weil die Bauchdeckenmuskulatur dem Fortschreiten des Prozesses einen gröfseren Widerstand entgegensetzt. Es liegen hier histologisch dieselben Verhältnisse vor, wie sie Wertheim in seinen Studien über die Hühnercholera beschrieben hat. Die Färbung auf Bakterien mit Karbolmethylenblau ergab, dafs sich die Hühnercholerabazillen in den alten Herden äufserst spärlich fanden, gegen den Rand hin in der Nähe der Hämorrhagie ungemein zahlreich über das ganze Gesichtsfeld zerstreut, zum Teile in Häufchen beisammen liegend, auftraten.

Man mufs wohl den ganzen Vorgang so auffassen, dafs das vom Peritoneum in die Säfte gelangte aggressive Exsudat die an sich schon unwirksamen Bakterien an der Injektionsstelle mobilisiert und zur Virulenz entfacht hat, die dann, wahrscheinlich vom Lymphweg aus, — denn in den erweiterten Kapillaren findet man keine Bakterien —, in die Säfte gelangt sind, sich in der Pleura- und Peritonealhöhle am intensivsten vermehrt und das Tier getötet haben. Meerschweinchen XI wurde als Kontrolltier aus dem Grunde gewählt, um die Sterilität des Exsudats zu erweisen. Dafs das Exsudat an sich vollständig wirkungslos ist, hat schon V. Stang nachgewiesen, der, um das Gift der Hühnercholerabazillen aufzusuchen, bis 20 ccm bakterienfreien Exsudats Tieren injizieren konnte, ohne dafs dieselben Schaden litten.

Was an Meerschweinchenversuchen ausgeführt wurde, um die aggressive Wirkung der Hühnercholeraexsudate festzustellen, wurde hier mitgeteilt und zwar fielen alle mit demselben Resultate aus. Nur eine einzige Versuchsreihe hatte ein negatives Ergebnis und zwar aus dem Grunde, weil alle Meerschweinchen intraperitoneal infiziert wurden und alle ohne beträchtliche Zeitdifferenz erlagen, weil, wie schon erwähnt, die intraperitoneale Infektion Meerschweinchen prompt und rasch tötet.

Aus allen diesen Versuchen, die in der verschiedensten Variation angestellt wurden, geht in übereinstimmender Weise hervor, dafs das bakterienreiche Exsudat von mit Hühnercholera infizierten Kaninchen und Meerschweinchen, im Gegensatz zum normalen Kaninchen- und Meerschweinchenserum, welches nach den ausgedehnten Versuchsreihen von Voges nicht unerheblichen Schutz verleiht, imstande ist, die natürliche Resistenz bei Meerschweinchen zu brechen. Welches die Schutzkräfte sind, die das Meerschweinchen der Infektion mit Hühnercholerabazillen entgegenstellt, ist nach diesen Versuchen nicht zu sagen. Die Phagozytose, die für die Immunität und Resistenz eine so bedeutende Rolle spielt, konnte nie mit Sicherheit beobachtet werden. Bei Kaninchen tritt sie überhaupt nicht auf, bei Meerschweinchen ist sie manchmal angedeutet, ein Umstand, der mit den Angaben Metschnikoffs übereinstimmt, dafs die virulenten Bazillen der Phagozytose sehr wenig unterworfen sind. Auch Voges, der die Vorgänge von resistenten Meerschweinchen in der Bauchhöhle beobachtete, konnte nie Phagozytose bemerken. Dafs Bakterizidie nicht stattfindet, geht zur Genüge daraus hervor, dafs die Bakterien am Orte der Infektion noch nach Wochen am Leben sind. Man könnte annehmen, dafs die Hühnercholerabazillen deshalb den Organismus des Meerschweinchens nicht überwinden, weil sie nicht befähigt sind, ihre Angriffsstoffe genügend intensiv zu bilden. Gibt man jedoch den Bakterien das Aggressin mit in der Form des Kaninchenexsudats oder gibt man es ihnen selbst hinterher, so entfalten sie beim natürlich resistenten Tiere genau dieselbe Wirkung wie beim empfänglichsten, sie sind imstande, ebenso wie das Kaninchen, auch das Meerschweinchen septikämisch zu töten.

Es mufs nun der zweite Punkt besprochen werden, nämlich Tiere durch Behandlung mit aggressinhaltigem Exsudat gegen die nachherige Infektion zu schützen. Bevor jedoch auf die eigene Immunisierung eingegangen wird, seien hier in Kürze die bisherigen Arbeiten erwähnt, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben.

Bekanntlich waren es die Hühnercholerabazillen, bei denen Pasteur zuerst die Immunisierung mit abgeschwächten Kulturen

gezeigt hatte. Diese Entdeckung, welche die ganze Auffassung vom Wesen der Immunität in neue Bahnen lenkte und den besten Erfolg erwarten liefs, war gerade bei der Hühnercholera fast erfolglos. So konnte Kitt, welcher die Vaccins aus dem Institut Pasteur einer Nachprüfung unterzog, finden, dafs die einmalige Impfung nur in einer ganz geringen Zahl hinreichte, Hühner zu schützen. Sehr empfängliche Tiere, wie Kaninchen, Tauben und kleine Vögel, wurden auch durch die Vaccins prompt getötet, welches Schicksal auch einige Hühner traf. Also ergab diese Nachprüfung im ganzen ein ziemlich negatives Resultat. So konnte Voges in seiner ausführlichen Arbeit über die Erreger der hämorrhagischen Septikämie sagen: »Wir müssen uns wundern, dafs Pasteur gerade diejenige Erkrankung für den Aufbau und als Fundament für die ganze Lehre von der Immunität ergriff, bei der, soweit unsere Erfahrungen in Betracht kommen, Immunität nicht erzielt wird.«

Foà und Bonome versuchten durch Bouillonfiltrate Immunität zu erzielen, indem sie Kaninchen intravenös und kombiniert subkutan und intravenös injizierten. Sie konnten jedoch nur geringe Resistenz erzeugen. In einem Falle geben sie an, dafs ein Kaninchen bei der Impfung mit dem Leben davongekommen sei, ziehen jedoch selbst in Betracht, dafs die zur Infektion verwendete Kultur abgeschwächt war. Weitere Mitteilungen, die sie über ihre Resultate in Aussicht stellen, sind ausgeblieben.

Mit Kulturen, die durch Chloroform abgetötet waren, versuchte Voges zu immunisieren. Gröfsere Mengen toter Bakterien bewirkten jedoch bei Kaninchen so intensive Veränderungen, fortschreitende Infiltrate und Abszesse, dafs viele Tiere schon daran zugrunde gingen. Die überlebenden Kaninchen zeigten jedoch bei der nachherigen Infektion mit lebenden Bazillen nur eine ganz geringe Resistenzerhöhung. Seine Immunisierungsresultate fafst Voges zusammen, indem er sagt: »Überblicken wir noch einmal den gesamten Inhalt, so ist das Ergebnis aller Mühe die Feststellung der Tatsache, dafs es mit den von uns angewendeten Methoden nicht gelingt, eine echte, andauernde

Immunität mit den Bazillen der hämorrhagischen Septikämie bei den verschiedensten Tiergattungen hervorzurufen. Dabei wollen wir immer noch die Möglichkeit offen lassen, dafs nicht doch durch diesen oder jenen Umstand zu irgendeiner Zeit eine echte Immunität erzeugt werden kann.«

Die Immunisierungsmethode Kitts sei im Anschlufs an die eigene besprochene erwähnt, und es mögen letzterer einige theoretische Erörterungen vorangehen.

Wir müssen wohl annehmen, dafs die enorme Vermehrung der Hühnercholerabazillen im Tierkörper, auf die schon hingewiesen wurde, der Hauptgrund ist, weshalb die Tiere erliegen. Ist diese Annahme richtig, so mufs es gelingen, die Tiere zu retten, wenn der Organismus die Eigenschaft erlangt, die Vermehrung der Bakterien hintanzuhalten. Wie ebenfalls schon erörtert wurde, sind es nach unserer Ansicht die Aggressine, welche die Bakterien zu der schrankenlosen Vermehrung befähigen, denn wir konnten, wie aus dem fünften Versuche ersichtlich ist, die Bakterien, die im natürlich resistenten Tiere an sich unschädlich und in geringer Zahl vorhanden waren, augenblicklich durch das aggressive Exsudat zur Vermehrung anregen. Unter solchen Umständen ist eine echte Immunisierung nur dann möglich, wenn der tierische Organismus selbst die Fähigkeit erlangt, die aggressiven Eigenschaften der Bazillen zu paralysieren. Die Immunisierung von Voges konnte diesen Zweck nicht erreichen, da ja die Einführung noch so vieler toter Bazillenleiber das aggressive Moment nicht in den Tierkörper hineinbringt. In Foà und Bonomes Versuchen enthielt die Kulturflüssigkeit offenbar das Aggressin nicht, das zwar als Sekretionsprodukt der Bazillen gedacht werden kann, sich aber wohl hauptsächlich nur im Tierkörper bildet. Ganz anders lägen die Verhältnisse für eine Immunisierung mit abgeschwächten Kulturen. Während der Hühnercholerabazillus für Kaninchen, Hühner und Tauben normalerweise als echter Parasit auftritt, kann ihm durch geeignete Abschwächungsmethoden gewissermafsen ein Teil seines Parasitismus geraubt werden, er wird zum Halbparasiten, dem nicht mehr die Fähigkeit zukommt, unter allen Umständen im Tierkörper

genügend Aggressin zu bilden, sondern der dies nur dann vermag, wenn eine gröfsere Individuenzahl in das Tier hineingelangt. Impft man daher mit der richtigen Dosis einer z. B. durch Sauerstoffzutritt abgeschwächten Kultur, so bildet diese Aggressin genug, um vielleicht lokale, auch allgemeine, nicht aber tödliche Krankheitserscheinungen zu erzeugen. Eine schrankenlose Bazillenwucherung bleibt dann aus, wohl aber reicht das gebildete Aggressin hin, um dem Organismus des empfänglichen Tieres die Fähigkeit zu verleihen, neu entstehendes Aggressin (infolge Einführung virulenter Bazillen) unschädlich zu machen. Wie diese Fähigkeit entsteht, ist vorläufig noch unbekannt.

Die Pasteursche Methode stellt also eine Möglichkeit dar, das sonst in Verbindung mit Bazillen unbedingt tödliche Aggressin zu dosieren, d. h. nur so viel davon im Tierkörper sich bilden zu lassen, dafs das Leben noch nicht gefährdet wird. Es liegt aber auf der Hand, dafs die Dosierungsmethode eine unsichere sein mufs. Die Aggressinmenge, die, von den abgeschwächten Kulturen im weniger empfindlichen Tiere gebildet, zur schrankenlosen Wucherung der Bazillen noch nicht hinreicht, kann im empfindlicheren Tiere sofort den Tod herbeiführen. Bei einem in dieser Hinsicht besser studierten echten Parasiten, dem Milzbrandbazillus, liefsen sich leicht passende Beispiele beibringen (Bail). Wenn es aber gelingt, einerseits die Aggressinmenge genau zu bemessen, anderseits die Gefahr, welche die gleichzeitige Einführung von lebenden Bazillen mit sich bringt, zu vermeiden, so mufs sich eine erfolgreiche Immunisierung unter allen Umständen durchführen lassen. Dabei ist das Wesen einer derartigen »Aggressinimmunität« das gleiche wie das der Pasteurschen. In beiden Fällen wird zunächst nur die aggressive Fähigkeit der Bazillen berücksichtigt, nur dafs sie das eine Mal im Tierkörper von lebenden Bazillen selbst erzeugt, das andere Mal ohne solche, aber sonst möglichst unverändert, künstlich eingeführt wird. Für die Verfolgung unseres Zweckes liegt der grofse Vorteil darin, dafs wir das Aggressin in der Form des Pleuraexsudats der mit Hühnercholera infizierten Kaniuchen in der Hand haben. Erlangen nun Tiere, die mit diesem Exsudat behandelt sind, die

Eigenschaft, mit dem Aggressin der Bakterien fertig zu werden, oder, um den geläufigeren Ausdruck zu gebrauchen, ein Antiaggressin zu bilden, das die Aggressivität der Bakterien paralysiert, so ist der Hauptzweck schon erreicht, indem die Bakterien, ihrer Hauptwaffe beraubt, unfähig sich intensiv zu vermehren, nicht imstande wären, das Tier zu töten.

Kaninchen wurden durchwegs mit dem Exsudat immunisiert, das auf die obenerwähnte Art und Weise sterilisiert wurde. Es sei nochmals darauf hingewiesen, betreffs der Sterilisierung die gröfste Vorsicht zu gebrauchen, da ja Kaninchen sozusagen das feinste Reagens für die Sterilität des Exsudats darstellen. Es mufs ferner bei der Immunisierung darauf Rücksicht genommen werden, dafs man im Verlaufe derselben die Kaninchen stetig in den Zustand der Überempfindlichkeit versetzt, welche so lange dauert, bis die Tiere das gesamte Exsudat verarbeitet haben. So wäre es möglich, dafs z. B. nach Injektion von $\frac{1}{2}$ ccm Exsudat nach 8 Tagen Immunität besteht, während ein Tier mit 3 ccm nach derselben Zeit in dem Zustand der höchsten Überempfindlichkeit sich befände, da noch viel freie, aggressive Flüssigkeit in seinen Säften kreist. Die Immunisierungsmethode ist, wie aus folgendem ersichtlich, ungemein einfach.

Kaninchen I.

$\frac{1}{2}$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen $1\frac{1}{2}$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen 3 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 14 Tagen Infektion mit $\frac{1}{10}$ Öse Bouillonkultur. Am folgenden Tage an der Injektionsstelle ein bohnengrofses, begrenztes, hartes Infiltrat, das sich resorbiert. Tier lebt gesund.

Kaninchen II.

$\frac{1}{2}$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen $1\frac{1}{2}$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen 3 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 11 Tagen Infektion wie oben. Tier zeigt nach der Infektion an der Injektionsstelle keine Erscheinungen. Tier lebt, gesund.

Kaninchen III.

Zur selben Zeit wie Kaninchen II 5 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Infektion zur selben Zeit wie Kaninchen II also nach 25 Tagen.

An der Injektionsstelle derbes, erbsengrofses begrenztes Infiltrat. Tier gesund.

Kaninchen IV.

1 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen 2 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 14 Tagen Infektion wie oben.

An der Injektionsstelle geringes begrenztes Infiltrat. Tier gesund.

Kaninchen V.

Als Kontrolle für die vier vorangehenden Kaninchen, welche alle zu derselben Zeit infiziert wurden.

Infektion mit $^1/_{20}$ Öse Bouillonkultur.

Am folgenden Tage früh ausgedehntes, weiches, nicht abgegrenztes Infiltrat an der Injektionsstelle. Tier schwer krank. Stirbt nach 24 Std.

An der Injektionsstelle diffuses, sulziges, hämorrhagischen Ödem. In der Pleura- und Peritonealhöhle ca. je 10 ccm klarer Flüssigkeit. Im Infiltrate an der Injektionsstelle zahlreiche Bazillen, wenige Zellen. Im Herzblut mikroskopisch und kulturell Bazillen.

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, dafs das injizierte Exsudat für Kaninchen vollkommen unschädlich ist, indem nicht die geringste Reaktion an der Injektionsstelle auftritt, was wieder voraussetzt, dafs die Bazillen aus dem Exsudat zum gröfsten Teil entfernt sind. Denn, wie Voges gezeigt hat, bewirken auch tote Bakterien in gröfserer Menge bei Kaninchen die intensivsten Veränderungen. Es ist schon daraus klar, dafs die hier erzielte Immunität nicht etwa auf Rechnung der toten Bakterien zu setzen ist. Ferner sehen wir, dafs das Exsudat auch für Kaninchen gar keine Toxizität besitzt, denn die immunisierten Tiere nehmen unausgesetzt zu und weisen keinerlei Erscheinungen auf, die etwa auf Giftigkeit des aggressiven Exsudats schliefsen liefsen. Die geringste Menge, die angewendet wurde, um Immunität zu erzeugen, sind 3 ccm (Kaninchen IV). Es läfst sich jedoch nicht sagen, ob nicht geringere Dosen auch hinreichen. Auch die einmalige Injektion einer gröfseren Dosis (Kaninchen III) macht Kaninchen immun.

Es mögen nun einige Worte über die Immunisierungsmethode Kitts folgen. Kitt geht so vor, dafs er Kaninchen mit Serum von Pferden, die gegen Hühnercholera immunisiert wurden, vorbehandelt, hierauf infiziert er die Kaninchen kutan. Dabei geht

ein Teil der Tiere prompt ein, ein Teil bleibt resistent. Von den letzteren nimmt er bazillenhaltigen Gewebssaft und impft weitere Tiere kutan, es bleiben wieder einige am Leben, die aber einer späteren Infektion prompt erliegen, wenn er statt kutan subkutan impft. Nach mehreren kutanen Impfungen überstehen einige Tiere auch die subkutane Infektion und sind immun. Überblicken wir diese Versuche, so sehen wir, dafs Kitt, um zu einem Resultate zu gelangen, mit grofsen Tieropfern arbeiten mufs. Doch scheint die Immunität, die Kitt an den wenigen Tieren erzielt, in der Tat eine echte Immunität, und zwar eine Aggressinimmunität zu sein. Dadurch, dafs Kitt Kaninchen Pferdeserum gibt, verleiht er ihnen eine gewisse Resistenz gegen geringe Bakterienmengen (Voges), dadurch, dafs er weiter Kaninchen die Bakterien mit dem Gewebssaft, worin sie gewachsen sind, d. i. mit aggressiver Flüssigkeit, gibt, werden die Tiere, welche die Infektion überstehen, durch die allerdings geringe Menge aggressiver Flüssigkeit weiter immunisiert, welche Immunität durch die fortwährenden neuerlichen Injektionen bakterienhaltigen Gewebssaftes immer stärker wird. Unserer Ansicht nach sind es in diesem Falle nicht die Bakterien, welche den Tieren Schutz verleihen, sondern zum grofsen Teile der mitinjizierte Gewebssaft.

Der unserer Immunisierungsmethode zugrunde liegenden Voraussetzung gemäfs mufsten Kaninchen auch gegen das bakterienhaltige, nicht sterilisierte Exsudat geschützt sein, welches, wie wir aus den Meerschweinchenversuchen her wissen, den bedeutend virulenteren Infektionsstoff darstellt. Der folgende Versuch ist nach der Richtung hin angestellt.

Kaninchen VI.

$^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen $1^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen 3 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 10 Tagen Infektion mit $^2/_{10}$ ccm zentrifugiertem nicht sterilisierten Kaninchenexsudat.

Nach 3 Tagen an der Injektionsstelle starkes Infiltrat, nach 14 Tagen gänseeigrofses fluctuierendes Infiltrat, welches nach Spaltung käseartigen Eiter entleert, indem sich mikroskopisch und kulturell Bazillen nachweisen lassen. Tier lebt, gesund.

Kaninchen VII. (Kontrolle zu Kaninchen VI.)

$^1/_{10}$ ccm zentrifugierten, nicht sterilisierten Kaninchen-Exsudats. Stirbt nach 10 Std. unter den typischen Erscheinungen.

Kaninchen VIII.

$^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen 1 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen $1^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen Infektion mit $^2/_{10}$ ccm zentrifugiertem nicht sterilisierten Kaninchenexsudat.

Am folgenden Tage ein haselnufsgrofses, derbes, begrenztes Infiltrat.

Nach 8 Tagen 1 ccm nicht sterilisierten Exsudats, daraufhin entwickelt sich ein grofses, derbes Infiltrat.

Nach 8 Tagen $1^1/_2$ ccm nicht sterilisiertes nur wenig zentrifugiertes Kaninchenexsudat. Starkes Infiltrat, das, im Laufe von 4 Wochen erweicht, zu einer käseartigen Masse wird. Spaltung und Drainage. In dieser Masse nach 2 Monaten mikroskopisch und kulturell Bazillen nachweisbar. Tier lebt, gesund.

Kaninchen IX. (Kontrolle zu Kaninchen VIII.)

Infektion mit $^1/_{10}$ ccm zentrifugiertem, nicht sterilisierten Kaninchenexsudat 4 Std. p. m. Stirbt in der Nacht. Typischer Befund.

Wir sehen daraus, dafs diese Kaninchen auch gegen die Infektion mit bakterienhaltigem Exsudat, also nicht nur gegen die Bakterien, sondern auch gegen die aggressive Flüssigkeit geschützt sind. Die Erscheinungen, die jedoch dabei auftreten, sind viel intensivere, indem sich starke Infiltrate bilden, unter denen die Tiere derart zu leiden haben, dafs sie nicht unbeträchtlich an Gewicht abnehmen und sich nur langsam erholen, übrigens ein weiterer Beweis für die grofse Bedeutung der aggressinhaltigen Flüssigkeit. Mit dem Leben kommen die Tiere jedoch sicher davon. Welche Mengen von Bakterien derart immunisierte Tiere vertragen, davon gibt Kaninchen VIII Zeugnis, welches gegen eine Dosis geschützt ist, die unzählige Kaninchen zu töten imstande wäre.

Worin die neuen Eigenschaften bestehen, die der immune Organismus erlangt hat, darüber läfst sich nach unseren Versuchen nichts bestimmtes sagen. Dafs eine Phagozytose nicht zu beobachten ist, darauf wurde schon hingewiesen. Von Bakteriolyse kann schon deshalb keine Rede sein, weil beim hochimmunen Tier noch nach Monaten lebende Bazillen nachzuweisen

sind. Es hat auch Voges, der in ausgedehnten Versuchsreihen das Serum resistenter Tiere untersuchte, nie eine Spur bakteriolytischer Eigenschaften finden können.

Diese Untersuchungen hätten eigentlich damit ihren Abschlufs gefunden, da nur geplant war, bei Kaninchen Immunität zu erzeugen. Doch die glatten Resultate, die dabei erzielt wurden, indem kein einziges immunisiertes Kaninchen der nachherigen Infektion erlag, ermutigten dazu, auch Vögel behufs Immunisierung mit Kaninchenexsudat zu behandeln. Dabei mufs jedoch bedacht werden, dafs wir es in diesem Falle nicht mit dem homologen sondern mit einem fremdartigen Körpersafte zu tun haben, dessen Wirkung auf das andersartige Tier nicht mit Sicherheit vorauszusagen war. Verwendet wurden eine Henne und Tauben.

Henne.

$^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen 1 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen $1^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 11 Tagen Infektion mit $^1/_{10}$ Öse Bouillonkultur subkutan.

An der Injektionsstelle nach 2 Tagen bohnengrofses, hartes, gut begrenztes, leicht verschiebliches Infiltrat. Tier lebt, gesund.

Kontrollhenne.

Infektion subkutan mit $^1/_{20}$ Öse Bouillonkultur. Stirbt nach 24 Std.

An der Injektionsstelle geringe Veränderungen.

Mikroskopisch an der Injektionsstelle enorme Mengen von Bazillen, wenige Zellen. Im Herzblut mikroskopisch enorme Mengen von Bazillen.

Taube I.

$^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 3 Wochen subkutan $^1/_{10}$ Öse Bouillonkultur. Stirbt nach 24 Std. Im Infiltrate und Herzblute Bazillen.

Taube II.

$^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen 1 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 14 Tagen Infektion wie oben. Stirbt nach 24 Std. Im Infiltrate und im Herzblute zahlreiche Bazillen.

Taube III.

$^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen 1 ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen $1^1/_2$ ccm sterilisiertes Kaninchenexsudat subkutan.

Nach 8 Tagen Infektion wie vorhergehend.

In den folgenden Tagen ein derbes, begrenztes Infiltrat. Tier lebt, gesund.

Taube IV. (Kontrolle zu den drei vorhergehenden.)
Subkutan mit $^1/_{20}$ Öse Bouillonkultur. Stirbt nach 24 Std.
Im Infiltrate und im Herzblute zahlreiche Bazillen.

Diese Versuche zeigen, dafs es auch gelingt, Hühner und Tauben mit Kaninchenexsudat zu immunisieren. Hochempfängliche Tiere wie Tauben, welche, wie die Nachprüfung der Pasteurschen Immunisierung durch Kitt ergeben hat, auch den abgeschwächten Bazillen, den Vaccins prompt erliegen, lassen sich durch dreimalige Injektion mit Kaninchenexsudat gegen die nachherige tödliche Infektion schützen. Die Versuche mit Vögeln sind aus dem Grunde in so geringer Zahl angestellt, weil sie, wie erwähnt, zum Schlusse ausgeführt wurden und diese Untersuchungen ihren vorläufigen Abschlufs erlangen sollten.

Mögen die Ansichten über die in dieser Arbeit behandelten theoretischen Fragen welche immer sein, soviel ist sicher, dafs es mit Hilfe einer auf Grund dieser Vorstellungen angewendeten Methode gelingt, gegen eine Erkrankung, gegen welche es bisher nur ausnahmsweise und unter ganz besonderen Umständen gelungen ist, Immunität zu erzeugen, das empfänglichste Tier gegen den virulentesten Stamm auf eine einfache und sichere Weise zu immunisieren.

Versuche über die passive Immunisierung sind das Ziel weiterer Untersuchungen.

Literatur.

Bail, Diese Zeitschrift, dieses Heft.
Foà und Bonome, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 5, Heft 3.
Kitt, Wassermann und Kolle, Handb. d. pathog. Mikroorganismen.
Tjaden, Zentralblatt f. Bakteriol., Bd. 25.
Voges, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 23.
Wertheim, Archiv f. experimentelle Patholog., Bd. 26.



ARCHIV

FÜR

HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München, Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT, Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

DREIUNDFÜNFZIGSTER BAND.

MÜNCHEN UND BERLIN.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1905.

Inhalt.

Ein Beitrag zur Ätiologie der Hundestaupe.

Von

Dr. **Oskar R. von Wunschheim,**

Assistenten am Institute.

(Aus dem Hygienischen Institute der k. k. Universität Innsbruck. Vorstand: Prof. A. Lode.)

Mit der Frage nach dem Erreger der Hundestaupe betritt man ein äufserst strittiges Gebiet, und in den mafsgebenden Kreisen der Forschung gilt diese Frage eigentlich noch als ungelöst. In der neuesten Auflage (1904) des trefflichen Lehrbuches von Friedberger und Fröhner (1) lesen wir noch den Satz: »Die Staupe ist eine kontagiöse Infektionskrankheit, deren Infektionsstoff zurzeit noch nicht mit einwandfreier Sicherheit nachgewiesen ist; es fehlt die Darstellung der Reinkulturen und ihre erfolgreiche Übertragung auf andere Tiere.«

An Bemühungen, den Erreger dieser verheerenden Krankheit aufzufinden, hat es nicht gefehlt, und wenn man die dieser Frage gewidmete Literatur überblickt, so zeigt sich, dafs fast jeder Beobachter einen anderen Erreger verantwortlich macht, und dafs Bakterien, deren Formen und kulturelles Verhalten durchaus untereinander verschieden sind, als die Erreger der Hundestaupe bezeichnet werden. (Vgl. Tab. I pag. 16 u. 17.)

Die Krankheit war nach den Angaben von Laosson (2) schon zu Aristoteles' Zeiten bekannt, auch eine im Jahre 1028 in Böhmen verbreitete Hundeseuche soll eine Staupeepidemie gewesen sein. Bei Friedberger und Fröhner finden wir die

Angabe, dafs die Staupe um die Mitte des 18. Jahrhunderts aus Amerika (Peru) nach Europa verschleppt worden sei, und zwar zuerst nach Spanien, von da nach Frankreich, Deutschland und den übrigen Ländern. Nach Frankreich soll sie etwa im Jahre 1740, nach Deutschland ums Jahr 1748, nach Italien 1764‘ nach England 1760, nach Rufsland 1770 vorgedrungen sein. Heute ist wohl kein Land mehr von ihr verschont.

Die Seuche ist unter den verschiedensten Bezeichnungen bekannt. In Deutschland wird sie mit dem Namen Sucht, Hundepest, Hunderotz, Hundekrankheit, Hundeseuche, Hundeschwachheit, Laune, Katarrhalfieber, Radeseuche belegt; in Frankreich heifst sie maladie du jeune âge, fièvre typhoïde, peste canine, catarrhe des chiens, pneumonie infectieuse et typhus des chenils, variole du chien, maladie oder morve; sie wird in England distemper, in Italien cimurro, in der Republik Argentinien moquillo genannt.

Das klinische Bild ist ein äufserst mannigfaltiges. Es äufsert sich meist in einer infektiösen, katarrhalischen Erkrankung der Schleimhäute der Augen, des Respirations- oder Digestionstraktus, oft kompliziert mit schweren Erscheinungen von seiten des nervösen Apparates, oft begleitet von fast immer tödlichen Pneumonien und mitunter durch Auftreten eines pustulösen Ausschlages auf der Bauchhaut und Innenseite der Schenkel charakterisiert. Je nach dem Vorwiegen der einen oder anderen Krankheitserscheinungen pflegt man die Hundestaupe einzuteilen in:

1. Die katarrhalische Form,
2. die gastrische,
3. die nervöse und
4. die exanthematische Form der Staupe.

Natürlich sind Vermischungen der Typen häufig zu sehen.

Bezüglich der Schwere der Erkrankung unterscheiden wir hochakute (septikämische), subakute und chronische Formen, letztere meist in schwere Kachexien ausgehend. Bezüglich genauerer Details sei auf das oben zitierte Lehrbuch von Friedberger und Fröhner (1) verwiesen.

Die ältesten Literaturangaben über die Krankheit sind wohl die von Taplin (3) und Donauer (4).

Die Tatsache, dafs wir es bei der Hundestaupe mit einer Infektionskrankheit zu tun haben, wurde schon frühzeitig erkannt und legen die Arbeiten von Waldinger (5), v. Gemmeren (6) und Delabère-Blain (7) hiervon Zeugnis ab.

Die ersten erfolgreichen Impfversuche dürften Renner und Karle (8) zu verzeichnen haben.

Die Experimente von Trastowo (9) wiesen nach, dafs die Staupe für junge Hunde, die die Seuche noch nicht durchgemacht hatten, ansteckend, dafs sie direkt und indirekt übertragbar sei, und dafs auch ältere Tiere krank gemacht werden könnten.

Trasbot (10) hatte anfangs kein Glück mit seinen Übertragungsversuchen; später gelangen ihm diese, als er Nasenausflufs mit Bläschensekret gemischt, in skarifizierte Partien der Bauchgegend verrieb. Nach 8 Tagen erkrankten die Versuchstiere Trasbots, welche zwischen 13 Tagen bis zu 3½ Monaten alt waren. Auch den Nachweis, dafs durch blofses Zusammenwohnen die Krankheit übertragen werden könne, erbrachte der genannte Untersucher.

Venuta (11) gibt das Inkubationsstadium mit 4—6 Tagen an, bestätigt, dafs durch Zusammenwohnen Infektion möglich sei, und berichtet, dafs das Kontagium genügend widerstandsfähig sich erweise, um Trocknen an der Luft bis zu einem gewissen Grade zu ertragen.

Krajewski (12) verfügt über Impfversuche an 36 Tieren, von denen allerdings die gröfsere Hälfte nicht erkrankte, nach Ansicht des Autors vielleicht deshalb nicht, weil sie die Krankheit schon durchgemacht hätten. Das Inkubationsstadium gibt Krajewski mit 4—7 Tagen an, Exantheme hat er selten und nur bei sehr schweren Fällen beobachtet; bei leichten Erkrankungen erfolgte Genesung schon nach 6—8 Tagen, nach einmaligem Überstehen der Krankheit trat meist Immunität ein. Das Kontagium haftete am Nasen- und Augenausflufs sowie am Blute; durch Eintrocknen und Gefrierenlassen bis zu 20° C wurde es nicht zerstört, jedoch durch monatelanges Aufbewahren in

trockenem Zustande in seiner Wirkung abgeschwächt. Krajewski hat bei der Impfstaupe eine Mortalität von nur 10—15 % konstatiert und empfiehlt deshalb die Staupeimpfung als vorbeugende Mafsregel.

Laosson (2) hat durch 98 an Huuden und Katzen gemachte Impfversuche die kontagiöse Natur der Staupe sicher erwiesen, auch zeigte er, dafs Katzen- und Hundestaupe identisch und gegenseitig übertragbar ist. Ältere Tiere wurden seltener angesteckt als solche in jugendlichem Alter, einmaliges Überstehen der Krankheit verlieh eiue gewisse Immunität. Der Nasenausflufs verlor seine Infektionsfähigkeit nach 14 Tagen, der Inhalt der Pusteln erwies sich als unwirksam. Das Inkubationsstadium betrug 4—7 Tage.

Es möge nicht unerwähnt bleiben, dafs Trasbot (10) und mit ihm eine Reihe von auderen, meist französischen Autoren die Staupe als echte Pockenkrankheit aufgefafst wissen wollten, was dazu führte, dafs eine Menge von erfolglosen Versuchen angestellt wurde, mittels Kuhpockenimpfung der Staupeinfektion vorzubeugen.

Dupuis (13) hat die Trasbotsche Auffassung widerlegt, da es ihm in keinem Falle gelang, bei jungen Hunden durch Vakzineimpfungen eine Immunität gegen Staupe zu erzeugen. Doch hält Trasbot auch heute noch an seiner Theorie fest, worauf wir weiter unten noch zurückkommen wollen.

Impfversuche, die Konhäuser (14) mit Pusteliuhalt vornahm, hatten einen negativen Erfolg, auch die Bemühungen von Jefs (26), durch deu Pustelinhalt staupekranker Hunde die Staupe zu übertragen, blieben erfolglos.

Mit der Verbesserung der Mikroskope und dem beginnenden Verständnis für bakteriologisches Arbeiten wurde naturgemäfs das Interesse an der ätiologischeu Erforschung der Hundestaupe in exaktere Bahnen der Untersuchung gelenkt und zahlreiche, leider aber vielfach recht lückenhafte Beobachtungen über Bakterien als Erreger dieser Kraukheit erscheiuen in der neueren Literatur.

Wie Waldinger, v. Gemmeren und Mecke sowie Delabère-Blain die ersten waren, welche den Charakter der

Hundestaupe als Infektionskrankheit richtig erkannten, so waren es Semmer (15), Krajewski (12) und Laosson (2), welche zuerst berichteten, dafs sie im Blute von staupekranken Hunden Mikroorganismen gefunden hätten, welche sie für die eigentlichen Staupeerreger hielten. Semmer und Laosson hatten kleine, äufserst zarte Stäbchen, Krajewski Mikrokokken beobachtet.

Ein Jahr nach Laosson machte Rabe (16) die Mitteilung, dafs er in dem eitrigen Inhalte der Pusteln, im Nasenausflufs und im Konjunktivalsekret staupekranker Hunde Pilze gefunden habe, welche er als die Infektionserreger verantwortlich macht; sie zeigten sich als kleinste, kaum mefsbare Kügelchen, in kleinen unregelmäfsigen Häufchen zusammenliegend oder sarcineartig zu 2—4 miteinander verbunden oder aber zu 4—5 perlschnurartig aneinander gereiht. Mit Methylviolett färbten sie sich dunkelblau. Diese Bakterien fanden sich im Nasensekret der erkrankten Tiere um so zahlreicher, je schwerer diese erkrankt waren, und sie verschwanden aus dem Sekret vollständig in der Rekonvaleszenz.

Friedberger (17) verzeichnet denselben Befund wie Rabe, steht aber der spezifischen Natur der beschriebenen Mikroorganismen sehr skeptisch gegenüber.

Im Jahre 1887 fand Mathis (18) in den Säften, Geweben, im Auswurf und den Pusteln staupekranker Hunde einen »spezifischen« Diplokokkus. Mathis züchtete denselben in neutraler oder leicht alkalischer Bouillon in Reinkultur. Durch Verimpfung der Reinkulturen wurden Krankheitserscheinungen hervorgerufen, welche mit den bei der Staupe beobachteten übereinstimmten (Temperatursteigerung, Pusteln usf.). Ganz junge Tiere starben oft infolge der Impfung, geimpfte erwiesen sich als immun.

Marcone und Meloni (19) fanden Mikroorganismen, welche grofse Ähnlichkeit mit dem Staph. pyog. aureus hatten.

Jacquot und Legrain (20) wiesen im Pusteleiter Mikrokokken nach, 0,6—0,8 μ im Durchmesser haltend, zu Diplokokken vereint und mit Beweglichkeit ausgestattet. Impfungen mit diesen Kokken erzeugten zwar Pusteln an der Impfstelle, jedoch keine Staupeerkrankung.

Galli-Valerio (21) beschreiben des ausführlichen einen Bazillus, welchen sie aus den Lungen, dem Gehirn, aus dem Rückenmark, aus dem Konjunktivalsekret, sowie aus dem Exsudat der Rückenmarkshaut erkrankter Tiere isoliert hatten. Auch im Eiter der Sinus frontales fand sich der erwähnte Mikroorganismus. Dieser »Ovalbazillus« der italienischen Autoren stellt ein Stäbchen von 1,25—2,5 : 0,3 μ dar, welches durch Beweglichkeit ausgezeichnet ist, die Gramsche Färbung annimmt und Sporen bildet. Es wächst auf der Agarplatte in Form von »kleinen, weifsen Punkten, welche zu einer weifslichen Platte zusammenfliefsen«, in Gelatine zeigen sich nach 24 Stunden Gasblasen längs des Stiches, ferner beobachtet man Trichterbildung ohne Verflüssigung. Peptonbouillon zeigt bei 18—20° C nach 24 Stunden Trübung ohne Bodensatz, nach einigen Tagen bilden sich Flocken am Boden des Kulturgefäfses. Auf Kartoffeln sieht man nach 24 Stunden eine weifsliche Auflagerung. Milch gerinnt nicht, Indol wird nicht gebildet, mit Milchzucker versetzte Peptonbouillon wird nicht vergoren. Der Impfversuch versagte bei alten Hunden, ein 5 Monate altes Tier gab alle Symptome der Staupe. Für Kaninchen und Meerschweinchen war der Pilz nicht pathogen.

Babes und Barsanescu (22) haben in zwei Fällen einen Mikroorganismus gezüchtet, der als feiner, beweglicher Bazillus von 0,3—0,4 μ beschrieben wird, keine Sporen bildete und sich gramnegativ verhielt. Von 9 geimpften jungen Hunden gingen 7 innerhalb von 10—18 Tagen an Staupe zugrunde.

Millais (23) fand einen Bazillus, der dem Pneumoniebazillus ähnlich war, aufserdem noch Mikrokokken. Wurde jungen Hunden ein Gemisch beider Kulturen in die Nase eingerieben, so erkrankten dieselben leicht an Staupe.

Der Ansicht von Jensen (24), der die Staupepneumonie als durch Streptokokken hervorgerufen annimmt, müssen wir auf Grund unserer Erfahrungen und Experimente widersprechen.

Taty und Jacquin (25) wiesen bei der nervösen Staupe im Zentralnervensystem Diplokokken nach und halten dieselben für die Krankheitserreger.

Jefs ([26]) meint, in einem Stäbchen von 1,8—2,3 : 0,6—0,9 μ, das sich grampositiv verhält und beweglich ist, den Erreger der Hundestaupe vor sich zu haben. Dieses Stäbchen wächst auf der Kartoffel als weifser, samtartiger Belag und ist nach Jefs für Meerschweinchen, Katzen und Hunde pathogen. Jefs hält seinen Bazillus für absolut verschieden von allen bei Staupe früher beschriebenen und gibt an, durch Verimpfung der Reinkultur Hunde staupekrank gemacht zu haben.

Petropawlowsky([27]) beschreibt als Erreger der Staupe einen Mikroorganismus, der grofse Ähnlichkeit mit dem 1895 von Galli-Valerio und 1896 von Babes und Barsanescu beschriebenen aufweisen soll. Kulturen, Hunden intraperitoneal oder subkutan einverleibt, erzeugen Staupesymptome und Eiterung an der Injektionsstelle mit Ausgang in Tod oder Genesung. Blutserum genesener Hunde agglutiniert den Bazillus, welcher noch für Mäuse (weifs und grau), weifse Ratten und Meerschweinchen Pathogenität besitzt. Petropawlowsky findet seinen Mikroorganismus sehr ähnlich dem Bacterium coli, Bazillus Friedländer, Rotzbazillus, besonders aber dem Pestbazillus.

Mari([28]) erklärt den Petropawlowskyschen Erreger kurzweg für ein Bacterium coli.

Von ganz besonderem Interesse erscheint uns eine im Jahre 1900 publizierte Arbeit von Lignières ([29]), welche sich u. a. auch mit der Frage nach dem Erreger der Hundestaupe intensiv befafst, und hier ausführlicher besprochen werden soll, schon aus dem Grunde, weil die in Buenos-Aires erschienene Publikation des französischen Autors im allgemeinen schwer zugänglich sein dürfte.*)

Die Ansicht von Lignières, es müfsten aus der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie der herrscheuden Verwirrung wegen — »il n'est pas un auteur qui n'ait reconnu la nécessité de mettre un peu d'ordre dans ce groupe des mala-

*) Herrn Professor Dr. Th. Kitt in München, welcher die Güte gehabt hat, mir sowohl seine Privatbibliothek als auch die seines Institutes zur Verfügung zu stellen, sei auch an dieser Stelle nochmals mein ergebenster Dank ausgesprochen.

dies causées par les bacteries ovoïdes, d'établir une classification ou desclassifications nouvelles« — zwei Gruppen herausgehoben werden, die Gruppe der »Pasteurellosen« und die »Salmonellosen« (Typus Hog choléra Salmons) hat wenig Freunde gefunden.

Montfallet (53) und Boschetti (52) konnten sich mit Lignières nicht einverstanden erklären. Auch Kitt (30) erscheint die Neubenennung bekannter Bakterien unnötig und willkürlich, sowie der alte Name, welcher den Charakter der Krankheit ausdrückt, passender.

Lignières verlangt als spezifische Charaktere der Pasteurella: unbewegliche, sehr polymorphe und involutionsfähige Kokkobazillen, welche Gelatine nicht verflüssigen, Milch nicht koagulieren, auch deren Reaktion nicht verändern, keine sichtbare Kultur auf natürlich sauerer Kartoffel geben, kein Indol bilden, keine Sporen und keine Geifseln besitzen. Der Geruch sei »sui generis«, die meist grofse Virulenz variabel. Bei intravenöser Einverleibung »affinité spéciale pour les synoviales tendineuses et articulaires.«

Die Gruppe wird streng kategorisch begrenzt durch Lignières' Ausspruch »l'absence de l'un ou de l'autre (dieser Merkmale) exclue le microbe du Groupe des Pasteurella«. Sonst wäre noch »comme indication générale« hinzuzufügen, dafs Polfärbung, mitunter äufserst zartes (discrètement) Wachstum und grofse Schwierigkeit des Nachweises im Organismus zu bemerken sind.

Zur Gruppe der Pasteurellosen zählt Lignières:

1. Pasteurellose aviaire (choléra des poules, septicémie des lapins etc.).
2. P. porcine (Schweineseuche, swine-plague, pneumoentérite, peste du porc etc.).
3. P. ovine (pneumoentérite, septicémie hémorragique du mouton, Lombriz, Cachexie aqueuse etc.).
4. P. bovine (Wildseuche, Rinderseuche, Barbone des buffles, entéqué).
5. P. équine (affections typhoides du cheval avec toutes leur formes et leurs complications).

6. P. canine (maladie des chiens dans toutes ses manifestations).

Im Jahre 1896 fiel Lignières gelegentlich seiner Untersuchungen über die typhoiden Erkrankungen beim Pferd die grofse Ähnlichkeit dieser Affektion mit der Hundestaupe auf. Versuche, einen spezifischen Erreger zu finden, mifsglückten, Impfversuche mit gefundenen Mikroorganismen fielen negativ aus.

Erst viel später züchtete Lignières aus dem Blute eines sehr jungen Hundes, welcher einer akuten Pneumonie erlegen war, ein kurzes Stäbchen, welches alle Charaktere der »Pasteurella« zeigte. Die Lunge dieses Tieres ergab einen andern Mikroorganismus. Aufserdem will Lignière bei zwei Zwingerepidemien, deren Fälle ihm Métivet und Trasbot zur Verfügung stellten, dasselbe Stäbchen gefunden haben. Die Epidemie Métivets war septikämischen, die von Trasbot gastroenteritischen hochakuten Charakters mit Ikterus einhergehend.

Soweit seien Lignières' Untersuchungen gediehen gewesen, als er in Mission des Instituts Pasteur nach Buenos-Aires geschickt wurde, wo sich ihm ein günstiges Feld der Beobachtung bot, da, wie er sagt, die Bewohner Argentiniens grofse Hundefreunde sind, auch viel reine Rassen gezüchtet werden, die ja bekanntermafsen viel empfindlicher gegen die Staupe sind als Kreuzungen oder Bastarde.

Lignières unterläfst es leider, in seiner Publikatiou uns mitzuteilen, aus welchen Organen der Tiere er seinen »Kokkobazillus« gezüchtet hat, ob er ihn oft oder selten angetroffen hat; er teilt uns kein einziges Sektionsprotokoll mit, soudern er begnügt sich damit, uns zu versichern »l'orsqu'on retire le microorganisme du chien il se présente sous la forme des bacilles assez longs, ne ressemblant pas beaucoup aux Pasteurella«. Nach der ersten Passage durch das Meerschweinchen »l'aspect du microbe commence à changer et bientôt il se montre sous la forme coccobacillaire si charactéristique«, ein Befund, den wir durchaus nicht bestätigen können.

Der Lignièresche Mikroorganismus färbt sich gut mit den gewöhnlichen Auilinfarben, nicht nach Gram. Involu-

tionsformen sind häufig, Beweglichkeit fehlt. Er wächst gut bei 37° C, jedoch auch bei 18 oder 20°, manchmal sogar bei letzterer Temperatur besser als bei 37° C. In neutraler oder leicht alkalischer Bouillon gedeiht er besser als in »Bouillon simple«. Säure unterdrückt das Wachstum. Die Bouillonkultur zeigt jedoch nicht die charakteristische Eigenschaft der »Pasteurella«, eine gleichmäfsige Trübung, sondern äufsert sich in Flöckchenbildung bei erhaltener Durchsichtigkeit der Nährflüssigkeit. Diese, von Lignières als charakteristisch bezeichnete Eigenschaft verliert sich jedoch nach seiner Aussage mit der Zeit, insbesondere nach Passagen durch das Meerschweinchen (in einem Falle nach der 20. Passage). Dann zeigt die Bouillon das Verhalten wie alle »Pasteurellosen«, eine diffuse Trübung. Kleine Serummengen, der Bouillon zugesetzt, begünstigen das Wachstum, Glyzerin zeigt keine merkbare Wirkung.

Milch wird nicht koaguliert, die Reaktion wird nicht verändert.

In Pankreasbouillon reichliches Wachstum, Indolbildung findet nicht statt.

Auf der Gelatineplatte erscheinen nach 36—40 Stunden kleine, runde, punktförmige Kolonien, die, erst durchsichtig, nach 8—10 Tagen weifslich opak erscheinen.

Im Gelatinestich entwickelt sich die Kultur längs des Stiches entweder in Form von kleinen weifslichen Kolonien oder in Form eines Streifens von gleicher Farbe. Die Kultur erscheint an der Oberfläche erst durchsichtig, dann opak, rund, und erreicht niemals die Wand der Eprouvette.

Der Gelatinestrich erscheint als ein weifser, irisierender Streifen, der später opak wird, und auch hier niemals bis an den Rand des Kulturgefäfses vordringt. Die Gelatine wird nicht verflüssigt; Kolonien, die mehrere Tage alt sind, haften fest an der Unterlage und lassen sich nur schwer abheben.

In der Agarplatte ist die Entwicklung rascher und reichlicher als in Gelatine. Die ersten Kulturen wachsen als kleine, streptokokkenähnliche Kolonien, nach einigen Passagen werden sie jedoch voluminöser und glänzend. Auf die Dauer behält dann die Kultur das opake Aussehen und die weifsliche Farbe.

Im Agarstich Wachstum längs des Stiches, opak, ohne die Wand des Reagensglases zu erreichen.

Auf Serum ist das Wachstum zart, aber oft auch dann noch in Erscheinung tretend, wenn die Agarkultur versagt.

Auf der Kartoffel mit unbewaffnetem Auge kein sichtbares Wachstum zu bemerken.

Was nun die Impfversuche von Lignières anbelangt, so stellt er die Behauptung auf, dafs die frisch aus dem Hunde gewonnene Kultur relativ wenig virulent für andere Tiere sei mit Ausnahme der Katze, wiederum eine Beobachtung, die wir nicht bestätigen können.

Subkutane Impfungen von Mäusen mit 4—8 Tropfen Peptonbouillon blieben oft ohne Erfolg; an der Impfstelle bildete sich meist nur eine intensive Schwellung, die nach und nach verhärtete. In anderen Fällen trat nach 2, 3 oder 4 Tagen der Tod ein. Intraperitoneale Einverleibung tötete innerhalb von 24 Stunden unter dem Bilde der Peritonitis.

Meerschweinchen erwiesen sich für intraperitoneale und subkutane Impfung empfänglich; 1 ccm Bouillonkultur, intraperitoneal gegeben, tötete innerhalb von 24 Stunden, subkutan hatten 5 ccm binnen 2 Tagen denselben Erfolg.

Auch das Kaninchen erlag innerhalb von 24—48 Stunden der intravenösen, subkutanen oder intraperitonealen Infektion.

Für Hunde verwendete Lignières mit Erfolg Bouillonkulturen von frischen Fällen. Passagen durch Meerschweinchen können die Virulenz für den Hund erheblich herabsetzen. 1 bis 2 ccm von Peptonbouillonkultur bewirken, subkutan injiziert, innerhalb von 24 Stunden eine sehr schmerzhafte Schwellung um die Injektionsstelle. Bei älteren Hunden pflegt sodann gegen den dritten Tag eine starke Abmagerung und Ausgang in Eiterung oder Resorption einzutreten. Die Wunde heilt rasch. Bei sehr jungen Hunden finden wir starkes Ödem, Schwellung der regionären Lymphdrüsen, schwere Eiterungen, oft mit Ausgang in Tod am vierten oder fünften Tage nach der Infektion. Durch intravenöse Injektion will Lignières die verschiedenen Formen der Staupe hervorgerufen haben: die septikämische mit Gastroen-

teritis, Pleuroperikarditis mit Arthritis und Gastroenteritis, Gastroenteritis allein, Gastritiden mit Hautpusteln, die nervöse Form, Gelenkaffektionen mit anschliefsender Kachexie, endlich auch die mit schwerer Pneumonie komplizierte Form.

Durch Zusammenwohnen kranker und gesunder Hunde wurden letztere infiziert, Verfütterung der Reinkulturen in Milch hatte keinen Erfolg, ebenso mifslangen Versuche, die Krankheit durch Einverleiben von Blut, Eingeweidestückchen oder pathologischen Produkten zu übertragen. Nur ganz ausnahmsweise gelingt die Übertragung mit dem Auswurf, dem serösen Brustinhalt oder Blut bei subkutaner, hauptsächlich aber intravenöser Einverleibung. Durch Einreiben der Nase mit Auswurf sind die Aussichten auf die Übertragung wesentlich gröfser.

Bezüglich der in manchen Fällen von Staupe auftretenden Pusteln der Haut steht Lignières auf dem Standpunkte, dafs wir es hier mit einer Sekundärinfektion zu tun haben, wie sie sich auch beim Pferd, Schwein und Schaf findet, während Trasbot, wie oben erwähnt, gerade in den Pusteln das Charakteristische der Staupe zu sehen gewohnt ist. Lignières hat niemals in den Pusteln »Pasteurella« gefunden, auch ist es ihm nicht geglückt, mit deren Inhalt die Krankheit zu übertragen; die Pustelflüssigkeit erzeugt, verimpft, lediglich eine lokale Läsion, keine Allgemeinerkrankung, was schon vor Lignières Laosson(?), Konhäuser (14) und Jefs (26) festgestellt hatten.

Kitt (60) wies schon im Jahre 1884 nach, dafs sich in dem eitrigen Inhalte der Pusteln verschiedene Bakterien befinden, und gelang es ihm auch, durch Verreiben des Eiters oder der rein kultivierten Mikroorganismen auf der leicht skarifizierten Bauchhaut junger Hunde einen pustulösen Ausschlag zu erzeugen, ohne dafs jedoch das Krankheitsbild der Staupe auftrat.

Ein Jahr nach dem Erscheinen der eben besprochenen Arbeit von Lignières machte Phisalix (31) Mitteilungen über dasselbe Arbeitsgebiet. Er erinnert zunächst daran, dafs er früher einmal (32) gezeigt habe, dafs ein Bazillus, den er gelegentlich einer Meerschweinchenepidemie isoliert hatte, auch für den Hund sehr virulent gewesen sei. Je nach Dosis und Virulenz tötete

dieser Mikroorganismus mit akutester Erkrankung innerhalb von 8—10 Stunden oder auch langsamer entweder die gastro-intestinale oder chronische Form, mit Ausgang in Kachexie hervorrufend. Der Eindruck dieser Krankheitsbilder wäre der der »maladie des chiens« gewesen. Phisalix hatte bei Hunden, die an Staupe zugrunde gegangen waren, verschiedene Bakterien, zumeist Streptokokken gefunden, doch blieben Inokulationsversuche resultatlos. Nach Erscheinen der Arbeit von Lignières(29) war Phisalix der Ansicht, dafs die morphologischen und biologischen Charaktere seines Bazillus der »septicémie du cobaye« vollständig gleich seien mit denen der »Pasteurellose canine« und versuchte neuerdings den fraglichen Bazillus bei staupekranken Hunden zu finden.

Es gelang Phisalix auch, wie er berichtet, in einer beträchtlichen Anzahl von Fällen, die ihm Laurent und Saint Yves zur Verfügung stellten, »le microbe spécifique« zu isolieren. Am besten gelang die Reinkultur (aus Blut und den Organen des Hundes), wenn man das Tier tötete, ehe noch eine Sekundärinfektion eingetreten war. Jedoch auch auf dem Wege gelang die Isolierung, dafs Phisalix die aus Cerebrospinalflüssigkeit gewonnenen Kulturen einem Meerschweinchen intraperitoneal einverleibte; im Peritonealexsudate gelangte nur der fragliche Mikroorganismus zur Entwicklung und Übertragungen in Bouillon liefsen in Reinkultur einen Bazillus gewinnen, welcher kulturelle Eigenschaften besafs, die dem aus Meerschweinchen gezüchteten Erreger der »septicémie du cobaye« äufserst ähnlich waren. Nur die Virulenz war für das Meerschweinchen geringer.

Dem Hunde gegenüber erwiesen sich beide Arten gleich pathogen, es trat bei intravenöser Einverleibung der Tod zwischen 5—10 Stunden ein, eventuell auch kam es zu langsamerem Verlauf mit verschiedenen klinischen Formen. Den manchmal äufserst rasch eintretenden Tod (innerhalb von 4—5 Stunden) schreibt Phisalix dem gelösten Gifte (es handelt sich wohl immer um Bouillonkulturen) zu, und bemerkt, dafs man in solchen Fälleu oft die aus Blut angelegten Kulturen steril findet.

In der Folge berichtet Phisalix noch, dafs das gelöste Gift schwer von den Mikroben zu trennen sei, weil es Filter nicht passiere, und dafs das Gift durch Hitze inaktiviert wird.*)

In einer Sitzung der Société centrale de Medécine Vétérinaire teilt Lignières ([35]) mit, dafs er, um seinen Erreger der »Pasteurullose canine« mit dem von Phisalix gefundenen Mikroorganismus identifizieren zu können, Phisalix um Übersendung einer Kultur gebeten habe. Da nun Phisalix dem Wunsche von Lignières nicht entsprochen habe, sah sich letzterer gezwungen, aus der Vakzine von Phisalix dessen Bazillus herauszuzüchten. Der Vergleich beider Bakterien ergab nach Lignières' Mitteilung völlige Identität in kultureller und pathogener Hinsicht. In der an diese Ausführungen sich anschliefsenden Diskussion betont Trasbot ([35]), dafs er nicht glaube, dafs Lignières den Erreger der Hundestaupe in Händen habe. Trasbot hält die Pusteln für das alleinige Kriterium der Staupe, und weil Lignières nicht aus diesen seinen Kokkobazillus gezüchtet hat, will Trasbot denselben nicht im Sinne desselben gedeutet haben und erklärt die Erkrankungen des Respirationstraktus, die Pneumonie, die gastrischen Erscheinungen, die Krampfanfälle usw. als durch Sekundärinfektionen verursacht, und behauptet, dafs immer während der ersten Woche der Erkrankung am Bauche und an der Innenseite der Schenkel die typischen Pusteln zu finden seien.

Bezüglich der Auffassung der Hundestaupe in bakteriologischer Hinsicht möge auch die Ansicht von Schantyr ([34]) nicht unerwähnt bleiben. Der genannte Autor ist der Meinung, dafs der als Staupe bekannte Symptomenkomplex in drei verschiedene Krankheiten zerlegt werden müsse, die durch drei sowohl morphologisch als auch kulturell und in ihrer pathogenen Wirkung durchaus verschieden sich verhaltende Mikroorganismen verursacht werden; ja, Schantyr meint sogar, dafs aufer diesen drei noch andere ätiologisch verschiedene Krankheiten bisher

*) In unseren Versuchen konnten wir mit Bouillonkulturfiltraten (Berkefeld) Kaninchen töten und einen Hund schwer krank machen, was wohl nur durch Giftwirkung erklärbar ist.

mit dem Namen Staupe benannt worden seien. Friedberger und Fröhner (1) lehnen diese Auffassung energisch ab und auch wir möchten uns nach unseren Erfahrungen ihrem Urteile anschliefsen.

Hundestaupe und Stuttgarter Hundeseuche (Hundetyphus).

Im August 1898 wurde in Stuttgart eine Hundeseuche beobachet, über die als Erster Klett (35) berichtet, der sich auf den Standpunkt stellt, dafs diese Seuche eine von der Hundestaupe streng zu unterscheidende Krankheit sei.

Weitere Beobachtungen stammen von Albrecht (36) in München, Scheibel (37) in Frankfurt a. M., Richter (38) in Dessau, Mattel (39) in Mödling, Tremmel (40) in Wien und Gundelach (41) in Magdeburg. Zschokke (42) hat die »Stuttgarter Hundeseuche«, wie sie nunmehr genannt wird, in Zürich, Trévisan (43) in Venedig beobachtet und beschrieben. In Frankreich wurde sie von Huet, Brun, Frégis (44), Guillemard und Chigot (45), Ducourneau (46) und Ben Danou (47) studiert.

Bimes und Sérès (48) berichten über dieselbe in Toulouse beobachtete Seuche, stellen sich aber in schroffem Gegensatz zu Klett, indem sie erklären, die »Stuttgarter Hundeseuche« sei nichts anderes als Hundestaupe. Sie stützen ihr Urteil auf die nicht zu unterschätzenden Befunde von Leclainche und Vallée, welche in den von den Verfassern klinisch und pathologisch-histologisch genauest studierten Fällen durchaus Bakterien vom Typus Pasteurella (Lignières) gefunden haben wollen. Da aber auch andere Forscher wie Scheibel, Richter und Pirl sowie Zschokke bei ihren Fällen von »Stuttgarter Hundeseuche« »ovoide«, wie sie sagen, hühnercholeraähnliche Bakterien gefunden haben, so ist es anzunehmen, dafs sich in Zukunft die Mehrzahl der Bakteriologen vielleicht auf den unitarischen Standpunkt stellen wird.

Tabelle I. **Verhalten der als Staupeerreger beschriebenen Mikroorganismen.**

Autor	Fundort	Form	Beweglich	Verhalten gegen Gram	Gasbildung	Sporen	Bouillon	Milchgerinnung	Indolbildung	Vergärung	Kartoffel	Pathogen für
Semmer und Laosson	Blut	Zarte Stäbchen	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Krajewski	—	Mikrokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rabe (Friedberger)	Pustelinhalt, Nasen- und Konjunktivalsekret	Sehr kleine Kokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mathis	Säfte, Gewebe, Auswurf, Pusteln	Diplokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Hund
Marcone und Meloni	—	Kokken, ähnlich dem Staph. pyog.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Jacquot und Legrain	—	Diplokokken	ja	—	—	—	—	—	—	—	—	Beim Hund nur Pustelbildung, keine Staupeerkrankung
Galli-Valerio	Lunge, Gehirn, Rückenmark, Sekrete, Eiter d. sinus frontal	Ovalbazillus 1,25—2,5 : 0,5 μ	ja	positiv	in Gelatine längs des Stiches	ja	—	nein	nein	nein	Weißliche Auflagerung	Junge Hunde, nicht für Meerschweinchen und Kaninchen
Babes und Barsanescu	—	Feiner Bazillus von 0,3—0,4 μ	ja	negativ	—	nein	—	—	—	—	—	Junge Hunde

Millais	—	Ein dem Pneumoniebazillus ähnlicher Baz. u. Mikrokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Junge Hunde
Jensen	—	Streptokokken als Erreger der Staupepneumon.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Taty u. Jacquin 1898	Zentralnervensystem	Diplokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Jeſs 1899	Nasendejekt	Stäbchen von 1,8-2,3 : 0,6-0,9 μ	ja	positiv	—	—	Trübung	—	—	—	Weiſser samtartig. Belag	Meerschweinch., Hunde, Katzen
Petropawlowsky 1899	—	Ähnlich d. Baz. von Babes und Barsanescu und Galli-Valerio	—	negativ	—	—	—	—	—	—	—	Weiſse u. graue Mäuse, weiſse Ratten, Meerschwein., Hunde
Lignières 1900	—	Kokkobazillus	nein	negativ	—	—	Flöckchenbildung, keine Trübung	nein	nein	—	Kein sichtbares Wachst.	Maus, Meerschw., Kaninch., Hund, Katze
Verfasser 1904	Nasensekret, Herzblut, in Exsudaten, Leber, Milz, Nieren	Kokkobazillus 0,3-0,5 : 0,75-1,5 μ	nein	negativ	ja	nein	Diffuse Trübung, Kahmhaut	nein	nein	ja	Sichtbarer schmieriger weiſslicher Belag, eventuell Bräunung	Maus, junge Ratte, Meerschw., Kaninch., Huhn, Taube, Hund, Katze
Kulturelles Verhalten der Hühnercholera nach Flügge (Kruse) und eigenen Kulturen	—	Kokkobazillus 0,4-0,6 μ : 1 μ	nein	negativ	—	nein	Diffuse Trübung	ja	ja	—	—	Vögel, Mäuse, Meerschweinch., Kaninchen

Mouquet ([49]) führt gegen die Identität von Hundestaupe uud »Stuttgarter Hundeseuche« (Typhus du chien) vor allem den Einwand ins Feld, dafs letztere Krankheit im Gegensatz zur Staupe vornehmlich ausgewachsene und alte, sehr selten nur junge Hunde befalle, (eigene Beobachtungen von Mouquet und Ducourneau), sowie dafs nervöse Komplikationen beim »Typhus du chien« fehlen sollen.

M. Butel ([50]), der ebenfalls Anhänger der Verschiedenheit von Hundestaupe und Hundetyphus ist, legt viel Gewicht auf den Umstand, dafs die gegen Staupe erworbene Immunität, welche immerhin nicht zu verachten sei, keinen Schutz gegen die Infektion mit Hundetyphus gewähre, und dafs typhuskranke Hunde, solche, die die Staupe schon einmal überstanden hatten, tödlich zu infizieren imstande waren.

Wenn man der Auffassung Rechnung trägt, dafs die Hundestaupe und der Typhus der Hunde (Stuttgarter Hundeseuche) durch einen Erreger verursacht und nur durch ihren verschieden grofsen Virulenzgrad unterschieden sein sollen, so erscheint uns gewifs höchst merkwürdig, dafs gerade bei den durch gröfsere Virulenz der Erreger ausgezeichneten Epidemien (Stuttgarter Hundeseuche, Typhus du chien der Franzosen) die wohl zweifellos durch Toxinwirkung ausgelösten schweren nervösen Symptome fehlen sollen (Mouquet), während bei den Epidemien minderer Virulenz (Hundestaupe) nervöse Symptome so überaus häufig beobachtet werden. Aber Bimes und Sérès ([48]) geben uns da die Versicherung, dafs auch beim Hundetyphus nervöse Symptome durchaus geläufige Erscheinungen seien. Und die Tatsache, dafs Hunde, welche die Staupe durchgemacht hatten, an »Typhus de chien« erkrankten, kann man wohl leicht gerade durch eine gesteigerte Virulenz des gemeinsamen Erregers erklären, zumal ja bekannt ist, dafs Hunde mehrmals an Staupe erkranken können.

Bezüglich des viel erwähnten Kokkobazillus sei noch erwähnt, dafs Lignières mitteilt, seine »Pasteurellose canine« auch im Nasenraum und im Speichel gesunder Hunde gefunden zu haben; sie sei wenig virulent gewesen und besser bei 20° C

als bei 37° C gewachsen. Ebenso hat Lignières Pasteurella im Nasenraum von Schafen und Pferden gefunden.

Bisanti ([51]) hat bei Untersuchungen über die Bakterienflora des normalen Hundes bei zehn untersuchten Fällen einmal eine »Pasteurella« im Darminhalt vorgefunden.

Eigene Beobachtungen.

Die Staupeepidemie, über welche wir berichten wollen, wurde nachweislich von aufsen in einen vorher vollständig gesunden Bestand von Hunden eingeschleppt.

Ein allseitig durch hohe Bretterwände abgeschlossener Raum diente Ende April 1904 13 Airedaleterriern und einem Irishterrier zum Aufenthalte. Sämtliche Airedales in den verschiedensten Altersstufen waren vom Verfasser gezüchtet und seit ihren ersten Lebenstagen beobachtet worden. Keiner derselben war jemals krank gewesen. Der Irishterrier war Mitte März aus England importiert worden, hatte kurze Zeit nach seiner Ankunft Husten und schleimige Absonderungen aus der Nase gezeigt, doch war trotz ständigen Zusammenwohnens kein anderer Hund erkrankt. Wir meinen, dafs damals ein einfacher Katarrh infolge der Überfahrt und noch nicht erfolgter Akklimatisierung vorlag.

Dem Alter nach verteilten sich die Hunde auf eine ungefähr 4 Jahre alte Hündin, zwei Wurfgeschwister je 1 Jahr 3 Monate alt, fünf Wurfgeschwister im Alter von 7 Monaten (Fall I, IV, VI, VIII und XI), sowie fünf Wurfgeschwister im Alter von 5 Wochen (Fall II, III, V, IX uud X).

Am 27. April wurden der Irishterrier sowie die beiden Airedaleterrierhündinnen Mifs (1 Jahr 3 Monate alt) und Sally (Fall I, Tabelle II), 7 Monate alt, zu der am 30. April und 1. Mai in München abgehaltenen Ausstellung eingesandt. Am 2. Mai gingen die Hunde, jeder in seinem Behälter, bei bestem Wohlbefinden von München direkt nach Berliu, wo sie am 7. uud 8. Mai ausgestellt waren. Von der Berliner Ausstellung trafen die drei Hunde am 11. Mai wieder in Innsbruck ein; der Irishterrier und

2*

die ältere Hündin Miſs vollkommen gesund, während Sally abgemagert aussah und etwas hustete. Dieselbe erholte sich bei guter Freſslust sehr rasch, der Husten lieſs nach 3 Tagen vollständig nach, das Tier war sehr munter, so daſs kein Grund vorlag, Sally, die mit einigen Stallgenossen zu der am 22. und 23. Mai in Wien stattfindenden Ausstellung reisen sollte, zu Hause zu lassen. Am 19. Mai wurden nun der Irishterrier und die Airedalehündin Miſs in je einem Behälter allein, Sally und deren Bruder Jimmy (Fall IV, Tabelle V) in einem gemeinsamen Behälter nach Wien abgeschickt.*) In Wien am 24. Mai zurück aufgegeben, gelangten die Tiere am 26. Mai gegen Mittag erst in meine Hände. Es waren diesmal die (immer gesund gebliebene) Hündin Miſs mit Jimmy (Fall IV) in einem Behälter verpackt, während Sally (Fall I) und der Irishterrier in je einem Korbe sich allein befanden. Sally war in desolatem Zustande. Die Hündin zeigte, aus dem Korb genommen, schwankenden Gang, groſse Schwäche in der Hinterhand und hatte in Intervallen von ca. 10 Minuten Krampfanfälle tonisch-klonischer Natur, bei denen sie sich zusammenkauerte und insbesondere heftige Zuckungen der Gesichtsmuskeln aufwies, die sich in Zähnefletschen und Klappern der Kiefer äuſserten. Auch bestand intensiver Speichelfluſs.

Die Hündin wurde sofort beim Wasenmeister isoliert und ging unter an Intensität und Häufigkeit zunehmenden Krämpfen am Abend des nächsten Tages ein (Fall I, Tabelle II).

Die anderen drei Hunde waren anscheinend gesund in den Zwinger zurückgebracht worden, doch soll Jimmy (Fall IV) auf dem Heimwege einige Male gehustet und am nächsten Tage verminderte Freſslust gezeigt haben. Das Husten führte der Wärter auf Drosseln des Zughalsbandes zurück und legte ihm deshalb keine Bedeutung bei.

Als ich am 30. Mai, also nach drei Tagen, im Zwinger Nachschau hielt, zeigten mit Ausnahme der alten Hündin und der

*) Die Hunde waren in München, Berlin und Wien in sog. Kollektionsräumen untergebracht, die ihnen freie Bewegung und natürlich auch Kontakt gestatten.

zwei im Alter von 15 Monaten stehenden Hunde alle mehr oder weniger ausgeprägte Krankheitssymptome wie serösen Ausflufs aus der Nase, leichten Husten, Trübung der Kornea; es konnte kein Zweifel mehr bestehen, dafs sämtliche jungen Hunde an der katarrhalischen Form der Staupe erkrankt waren.

Es wäre nun wohl angezeigt gewesen, die noch gesunden älteren Hunde zu isolieren und so einer möglichen Erkrankung derselben vorzubeugen. Da nun aber einerseits gerade die wertvollsten Tiere bereits erkrankt waren, anderseits uns die Frage, ob die bis jetzt gesund gebliebenen älteren Tiere sich auch fernerhin der Infektion gegenüber resistent verhalten würden, interessierte, so beliefsen wir dieselben in Kontakt mit den erkrankten Genossen. In der Tat blieb die vierjährige Hündin und die beiden im Alter von 15 Monaten stehenden Wurfgeschwister trotz des steten Beisammenseins mit den Patienten vollkommen gesund. Der einjährige Irishterrier zeigte Husten und starken eitrigen Ausflufs aus der Nase, so dafs er wohl als staupekrank angesehen werden mufste, doch war der Verlauf seiner Erkrankung ein durchaus gutartiger; er verlor niemals die Frefslust und war nach ungefähr 14 Tagen völlig hergestellt.

Anders jedoch die jungen Airedales. In kurzen Zwischenräumen gingen trotz sorgfältigster Wartung sechs der erkrankten Hunde ein, denen in etwas längeren Intervallen noch drei andere nachfolgten. Von zehn erkrankten Hunden kam nur ein einziger mit dem Leben davon.

Wir geben im folgenden die Protokolle der einzelnen Fälle sowie mikroskopische und kulturelle Befunde wieder.

Fall I, Protokoll Nr. 212.

Airedalehündin »Sally«, gew. am 2. Oktober 1903.

Vorgeschichte oben geschildert. Exitus am 27. Mai, 8 Uhr 45 Min. p. m. Über Nacht in kühlem Raum aufbewahrt Sektion am 28. Mai, 4 Uhr p. m.

Augen tief in den Höhlen liegend, Schaum vor dem Maule, Kadaver sehr abgemagert, doch Fettpolster noch reichlich vorhanden. Die Schleim-

haut des Maules blafs, ohne Ulcera. In der Trachea viel glasiger Schaum. In der Pleurahöhle seröser, nicht hämorrhagischer Ergufs. Lungen normal.

Am Herzen äufserlich nichts Abnormes. Im Perikard reichlich gelbes Serum.

Die Leber grofs und brüchig.

Die Milz mittelgrofs und zähe.

Die Nieren mäfsig blutreich, normal.

Der Magen leer, nur wenig Schleim enthaltend, ohne Entzündungserscheinungen, ohne Blutungen.

Mikroskopisch wurden untersucht Ausstrichpräparate vom Pleuralexsudate, Perikardialexsudate, von der Oberfläche der Lunge, vom Herzblut, von Leber und Milzsaft, auch von der Oberfläche der Leber wurde ein Klatschpräparat angefertigt. Im Pleuralexsudat wurden einige wenige Stäbchen beobachtet, welche meist in Verbänden zu zweien auftraten, von einer deutlichen Kapsel umgeben waren und sehr an Bac. Proteus erinnerten. Im Perikardialexsudat konnte trotz langen Suchens nur ein einziges solches Stäbchen nachgewiesen werden, den gleichen Erfolg hatte unser Nachsuchen im Ausstrichpräparate von der Milz. In allen anderen Präparaten war von Mikroorganismen nichts zu sehen.

Kulturen (schräger Agar) wurden angelegt vom Pleuralexsudat, Perikardialexsudat, von der Oberfläche der Lunge, vom Herzblut, von der Leber, vom Milzsafte.

Am nächsten Tage waren alle Röhrchen mit Ausnahme derjenigen, welche mit Perikardialexsudat und Exsudat von der Oberfläche der Lunge beimpft worden waren, bewachsen, die Kulturen zeigten jedoch zu unserem Erstaunen keineswegs die Bakterien, welche wir im Ausstrichpräparate gesehen hatten, sondern durchwegs und rein ovale kleine Kurzstäbchen mit deutlicher Polfärbung, Formen, wie sie dem Erreger der Hühnercholera, also den Bakterien der hämorrhagischen Septikämie eigentümlich sind. Das vom Perikardialexsudat angelegte Agarröhrchen blieb steril, das mit Exsudat von der Oberfläche der Lunge beimpfte zeigte nach weiteren 24 Stunden ebenfalls eine Reinkultur von hühnercholeraähnlichen Bakterien.

Wir benennen in allen weiteren Protokollen dieses ovoide Stäbchen mit »Stäbchen 212«.

Tabelle II.

Fall I, Protokoll Nr. 212.

Airedaleterrierhündin »Sally«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt zwischen 2. und 11. Mai 1904, † am 27. Mai.

	Pleuralexsudat	Perikardialexsudat	Oberfläche der Lunge	Herzblut	Oberfläche d. Leber	Leber	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparate	Einige grofse Stäbchen mit Kapseln	Äufserst spärliche grofse Stäbchen	0	0	0	0	Äufserst spärliche grofse Stäbchen
Kultur	Kleines ovales Kurzstäbchen (später als Stäbchen 212 geführt)	steril	Kleines ovales Kurzstäbchen	Kleines ovales Kurzstäbchen	—	Kleines ovales Kurzstäbchen	Kleines ovales Kurzstäbchen

Fall II, Protokoll Nr. 215.

Airedalehündin »Mifs Kate«, gew. am 24. März 1904.

Am 29. Mai munter und gesund. Frifst gut.

Am 30. Mai schwer krank. Verweigert jede Nahrung. Erbricht. Schwäche in der Hinterhand, taumelnder Gang. Grofser Durst.

Am 31. Mai früh fast bewufstlos. Exitus 10 Uhr 50 Min.

Sektion 40 Min. später.

Am Respirations- und Digestionstraktus keine pathologischen Veränderungen. Keine serösen Ergüsse.

Herzblut flüssig, dunkel, teerig.

Leber sehr grofs, blutreich, sehr brüchig.

Milz mittelgrofs, licht mit einzelnen dunkelroten Flecken, zäh.

Mikroskopisch fanden sich im Herzblute einzelne spärliche kurze Stäbchen, sonst nirgendwo Bakterien.

Kulturen wurden angelegt vom Herzblut (Agar und Serum), von der Leber, vom Milzsaft und aus der Galle.

Am nächsten Tage zeigte uns nur eine Kultur (Herzblut auf Agar) Wachstum und zwar ein Stäbchen mit runden Polen von ca. 1—2 μ Länge und mindestens 0,5 μ Dicke, ein Befund also, der sich mit dem in Fall I kulturell erhobenen nicht gut identifizieren liefs.

Behufs Erprobung im Tierexperiment wurde diese am 31. Mai aus dem Tier direkt angelegte Kultur 0 am 1. Juni überimpft (0_1), und von dieser am 2. Juni eine weitere Abimpfung (0_2) vorgenommen. Am 4. Juni erhält nun ein Hase eine Öse 48stündiger Agarkultur 0_2 in eine Ohrvene injiziert. Bei der mikroskopischen Kontrolle der Kultur erweist sich dieselbe aus den oben beschriebenen grofsen Stäbchen bestehend. Am 6. Tage nach der Infektion geht das Kaninchen zugrunde.

Bei der Sektion findet sich blutig seröses Exsudat in der Bauchhöhle und im Herzbeutel. Leber und Milz sind geschwellt und brüchig. Im Herzblut konnten wir mikroskopisch keine Mikroorganismen nachweisen, doch fanden sich im Leber- nnd Milzsaft zahlreiche Bakterien wie Stäbchen 212. Die Kultur ergab uns aus Bauchexsudat, Herzblut, Leber und Milz in Reinkultur einen Bazillus, der dem Stäbchen 212 identisch war, keineswegs aber die eingeimpften grofsen Formen.

Nach dem Ausfall dieses Tierexperimentes lag es wohl nahe anzunehmen, dafs in Fall II die eigentlichen Erreger durch Vergesellschaftung mit einem saprophytischen Bakterium, eben den erwähnten grofsen Stäbchen, in der Kultur durch Beeinflussung ihres Konkurrenten nicht genügend zur Entwicklung kommen konnten, aber einem Versuchstiere eingeimpft, ihre pathogene Wirkung sofort, wenn auch nur in geringster Menge eingebracht, geltend machten.

Diese unsere Überzeugung wurde bestätigt, als wir schon in vierter Generation (O_3) der Fortzüchtung aus der Originalkultur 0 nur mehr wenige grofse Stäbchen, aber in überwiegender Zahl Stäbchen wie 212 wachsen sahen. Es war nunmehr ein Leichtes, durch Plattengiefsen dieselben Bakterien reinzuzüchten, wie wir sie schon bei Fall I gefunden hatten.

Dieses Ergebnis scheint uns recht klar darauf hinzuweisen, wie leicht es möglich ist, dafs infolge von Mischinfektionen oder Auftreten von Saprophyten der eigentliche Erreger der Hundestaupe verdeckt werden kann.

Tabelle III.

Fall II, Protokoll Nr. 215.

Airedaleterrierhündin »Mifs Kate«, gew. am 24. März 1904, erkrankt am 30. Mai, † am 31. Mai.

	Herzblut	Leber	Milz	Galle
Mikroskopischer Befund im Ausstrichpräparate	Wenige kleine ovale Kurzstäbchen mit Polfärbung	0	0	0
Kultur	Agar: Nach 24 Std. grofse plumpe Stäbchen, erst nach dem dritten Überimpfen treten neben diesen auch die ovalen Stäbchen wie Stäbchen 212 auf. Serum: Steril.	steril	steril	steril

Fall III, Protokoll Nr. 227.

Airedaleterrierrüde »Tipsy«, gew. am 24. März 1904.

Am 30. Mai seröser Ausfluſs aus der Nase. Husten.

Da Nahrung nicht genommen wird, erhält der Hund dreimal täglich je zwei rohe Eier, mit Milch oder Suppe verrührt, eingegossen. Auch die Hunde Fall IV, V, VIII und IX müssen künstlich ernährt werden und erhalten auſserdem wie auch Tipsy »Stanpeantigonemine« als Heilmittel verabreicht. Nach einigen Tagen wechselnden Befindens tritt am 3. Juni eine Verschlimmerung des Zustandes ein, der Hund liegt im Stall, rasselt beim Atmen (Pneumonie?) und stöhnt schwer.

In der Nacht vom 4. auf den 5. Juni zwischen 12 Uhr 30 Min. und 4 Uhr erfolgt der Exitus.

Sektion am 5. Juni Vormittag 11 Uhr.

Linke Lunge: Der Oberlappen zu dreiviertel, der Mittellappen vollständig pneumonisch infiltriert im Stadium der Eiterung, im Unterlappen einige gröſsere disseminierte Herde.

Rechte Lunge: Der Oberlappen zur Hälfte, der Mittel- und Unterlappen gänzlich pneumonisch infiltriert, in stadio suppurationis.

Die serösen Höhlen frei von Exsudaten.

Die Leber stark steatotisch, nicht sehr blutreich.

Die Milz zäh, derb.

Am Digestionstraktus nichts Abnormes.

Mikroskopisch in dem eitrigen Lungenparenchym zahlreiche polgefärbte ovale Stäbchen vom Typus des Stäbchens 212 nachzuweisen, besonders häufig zu zweien angeordnet und mit Kapseln umgeben, so daſs man bei flüchtiger Beobachtung an das Bild des Diplokokkus Fränkel-Weichselbaum gemahnt wird. Im Herzblut, Leber und Milz sind Bakterien nicht nachweisbar.

Die Kultur ergibt aus der Lunge und Herzblut das typische Stäbchen 212, Kulturen aus Leber und Milz bleiben steril.

Tabelle IV.

Fall III, Protokoll Nr. 227.

Airedaleterrierrüde »Tipsy«, gew. am 24. März 1904, erkrankt am 30. Mai, † am 5. Juni 1904.

	Oberfläche der Lunge	Pneumonischer Herd in der rechten Lunge	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparate	Zahlreiche Stäbchen 212	Zahlreiche Stäbchen 212, meist zu zweien nebeneinanderliegend	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212	Stäbchen 212	I. Strich: Steril II. Strich: Stäbch. 212	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)

Fall IV, Protokoll Nr. 231.

Airedaleterrierrüde »Jimmy«, gew. am 2. Oktober 1903.

Der Hund war mit »Sally« (Fall I, Tabelle II) gesund am 19. Mai in einem gemeinsamen Behälter zur Wiener Ausstellung gesandt worden, daselbst im Kollektionsraum in regem Kontakt mit den andern Hunden gewesen und am 26. Mai wieder eingelangt.

Leichter Husten. Scheint am 27., 28. und 29. Mai krank, frifst aber mit Appetit, geht nicht gerne von seinem Lager.

Am 30. Mai stärkerer Husten, seröser Ausflufs aus der Nase, Schwäche in der Hinterhand, keine Frefslust. Die Diagnose Staupe ist aufser Zweifel. Künstliche Ernährung und Staupeantigourminetherapie.

In der Folge nimmt der Husten an Intensität zu, der Ausflufs aus der Nase mit der Zeit eitrig. Wechselndes Befinden. Ab und zu Muskelzittern und leichte tonisch-klonische Krämpfe.

Am 7. Juni abends starke anfallsweise Krämpfe, die sich oft wiederholen.

Am 8. Juni Früh zahlreiche Anfälle. Exitus zwischen 9 Uhr 45 Min. und 11 Uhr vormittags.

Sektion 3 Uhr 15 Min. nachmittags.

In beiden Lungen gröfsere und kleinere pneumonische Herde in stadio suppurationis. Kein Exsudat im Herzbeutel oder Bauchraum.

Herzblut flüssig, teerig.

Leber reich brüchig.

Milz zähe, blafs.

Keinerlei Erscheinungen am Digestionstraktus.

Mikroskopisch sehr wenige ovale polgefärbte Stäbchen im Lungenparenchym, keine Bakterien im Herzblut, Leber- oder Milzsaft zu finden.

Das typische Stäbchen 212 läfst sich aus dem Lungenparenchym in Reinkultur züchten, Kulturen aus Herzblut, Leber und Milz bleiben steril.

Tabelle V.

Fall IV, Protokoll Nr. 231.

Airedaleterrierrüde »Jimmy«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt zwischen 19. und 26. Mai, † am 8. Juni.

	Lunge pneumonisch. Herd	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopischer Befund im Ausstrichpräparat	Sehr wenige Stäbchen 212	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212	steril	steril	steril

Fall V, Protokoll Nr. 232.

Airedaleterrierhündin »Tosca«, gew. am 24. März 1904.

Seit 29. Mai krank, starker Ausflufs aus der Nase, starke Konjunktivitis, Husten. Kein Erbrechen. Künstliche Ernährung und Behandlung mit Staupeantigourmine. In der Folge wird der Husten stärker.

Am 9. Juni abends Erbrechen.

Das Tier lebt noch am 9. Juni abends 9 Uhr 30 Min., wurde am 10. Juni Früh 5 Uhr tot aufgefunden.

Sektion 10 Uhr vormittags.

Kein Exsudat in der Bauch- nnd Brusthöhle, noch im Herzbeutel.

In der Trachea weifser glasiger Schaum. Beiderseitige Pleuritis fibrinosa.

Beide Lungen mit gröfseren und kleineren pneumonischen Herden im Stadium der Eiterung durchsetzt. Der linke Mittel- und der rechte Unterlappen gänzlich infiltriert nnd vereitert.

Die Leber brüchig, fettig degeneriert.

Die Milz zäh, derb.

Mikroskopisch nirgends Bakterien zu finden. Von drei aus den Lungenherden angelegten Kulturen bleiben zwei steril, in der dritten finden wir das Stäbchen 212 in Reinkultur gewachsen. Kulturen von Herzblut, Leber, Milz und Niere blieben steril.

Tabelle VI.

Fall V, Protokoll Nr. 232.

Airedaleterrierhündin ›Tosca‹, gew. 24. März 1904, erkrankt am 29. Mai, † am 10. Juni 1904.

	Oberfläche der linken Lunge	Oberfläche der rechten Lunge	Linke Lunge pneum. Herd	Herzblut	Leber	Milz	Linke Niere
Mikroskopischer Befund im Ausstrichpräparate	0	0	0	0	0	0	0
Kultur	steril	steril	Stäbchen 212	steril (4 Striche)	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)	steril

Fall VI, Protokoll Nr. 233

Airedaleterrierhündin ›Sissie‹, gew. am 2. Oktober 1903.

Seit dem 29. Mai erkrankt. Typischer Ausflufs aus der Nase, Husten, Schwäche der Hinterhand, tanmelnder Gang.

Am 8. Juni abends und 9. Juni Früh treten Krämpfe auf.

Am 9. Juni starkes Rasseln. Das Tier liegt fast bewufstlos im Stall und geht am Abend des 10. Juni ein.

Sektion am 11. Juni vormittags 11 Uhr.

Kein Exsudat in den serösen Höhlen.

In beiden Lungen mehr oder weniger grofse pneumonische Herde im Stadium der Infiltration, nur wenige in stadio suppurationis.

Herzblut teerig.

Leber brüchig.

Milz derb.

Von seiten des Digestionstraktus keinerlei Erscheinungen.

Mikroskopisch in der Lunge große Stäbchen, wie wir sie schon einmal in Fall II zu beobachten Gelegenheit hatten. Eine Kultur, welche aus einem pneumonischen Herde stammte, ergab jedoch unser typisches Kurzstäbchen 212 rein. Sämtliche von der Oberfläche der Lunge, aus dem Herzblute, Milz und Lebersafte angelegten Kulturen blieben steril, nur in einem der drei vom Herzblute angelegten Ausstriche wuchs am 3. Tage eine Gattung Clostridienformen, welche sich als nicht pathogen erwies.

Tabelle VII.

Fall VI, Protokoll Nr. 233.

Airedaleterrierhündin »Sissie«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt am 29. Mai, † 10. Juni.

	Oberfläche der rechten Lunge	Lunge pneumon. Herd	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopischer Befund im Ausstrichpräparat	0	Große plumpe atypische Stäbch.	0	0	0
Kultur	steril	Typisches Stäbchen 212	In einem Strich Klostridienformen, 2 Striche steril	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)

Fall VII, Protokoll Nr. 228.

Bastardhund »Ratz«, ca. 10 Wochen alt.

Der vollständig gesunde junge Hund wird am 4. Juni, zu einer Zeit da unsere Epidemie sich noch auf der Höhe befand (sieben kranke Hunde), in den Zwinger gesperrt und in regem Kontakt mit den kranken Tieren gelassen.

Am 16. Juni Husten.

Am 17. Juni ist der Husten sehr stark, Ausfluß aus der Nase.

Am 18. Juni Zustand etwas besser.

Am 19. Juni typischer Nasenausfluß, rechtes Auge ganz verklebt, Husten geringer.

Nach wechselndem Befinden am 22. Juni 3 Uhr 30 Min. p. m. Exitus.

Sektion 4 Uhr p. m.

Der Oberlappen und Mittellappen der rechten Lunge pneumonisch infiltriert, hie und da größere Eiterherde. Derselbe Befund an dem Oberlappen der linken Lunge. Starke fibrinöse Anflagerungen auf der ganzen rechten Lunge und auf dem Perikard.

Leber sehr brüchig, stark steatotisch.

Milz sehr zäh, pulpa- und blutarm.

Nieren blafs.

Im Magen keine Blutungen, nur etwas galliger Inhalt.

Mikroskopisch fanden wir in den pleuritischen Auflagerungen der rechten Lunge, sowie in einem pneumonischen Herde des Mittellappens der rechten Lunge einzelne polgefärbte ovale Stäbchen vom Typus unseres Stäbchens 212. Im Herzblut, Leber und Milz konnten wir keinerlei Bakterien auffinden.

Kulturen wurden angelegt von den pleuritischen Auflagerungen der rechten Lunge, von dem pneumonischen Herde daselbst, von Herzblut, Leber- und Milzsaft. Am nächsten Tage waren von sieben angelegten Strichen fünf mit Kokken bewachsen, zwei waren steril geblieben, nirgends zeigten sich unsere ovalen Stäbchen. Doch auch hier erwies sich Überimpfen als gutes Mittel, um den pathogenen Mikroorganismus von seinem Begleiter zu trennen, und schon die zweite Kultur zeigte uns in dem aus einem pneumonischen Herd angelegten Striche neben den Kokken zahlreiche Stäbchen 212, welche durch die Platte nunmehr leicht isoliert werden konnten.

Tabelle VIII.

Fall VII, Protokoll Nr. 228.

Bastardhund »Ratz«, ca. 10 Wochen alt, wird am 4. Juni zu den erkrankten Hunden gesperrt; erkrankt am 16. Juni, † am 22. Juni 1904.

	Pleuritische Schwarte der rechten Lunge	Pneumonischer Herd, rechte Lunge	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparat	Stäbchen 212, auch zu zweien angeordnet	Stäbchen 212, auch zu zweien angeordnet	0	0	0
Kultur	Kokken	Kokken, nach einmaliger Überimpfung zeigte sich neben Kokken das Stäbchen 212	I. Strich: Eine Kolonie Kokken II. Strich: Steril III. Strich: Kokken	Kokken (2 Striche)	I. Strich: Steril II. Strich 10Kolonien Kokken

Fall VIII, Protokoll Nr. 257.

Airedaleterrierrüde »Jack«, gew. am 2. Oktober 1903.

Am 29. Mai gesund.

Am 30. Mai leichter Husten, etwas seröser Ausflufs aus der Nase.

Leicht krank bis ca. 8. Juni, dann bedeutende Verschlimmerung, starker Husten, typischer eitriger Nasenausflufs, taumelnder Gang, Zittern einzelner Muskelgruppen, Zähneklappern, Zucken einzelner Extremitäten. Starke Konjunktivitis.

Der Zustand bleibt bei der äufserst kräftigen Konstitntion des Patienten schwankend bis zum 22. Juni, an welchem Tage mehr pneumonische Symptome in den Vordergrund treten.

Am 23. Juni gegen 9 Uhr abends Exitus.

Sektion am 25. Juni 10 Uhr vormittags.

Die linke Lunge in toto pnenmonisch infiltriert, die rechte Lunge zeigt zahlreiche kleinere Herde.

Leber stark brüchig, steatotisch.

Milz ziemlich pulpareich nnd weicher als sonst.

Der Magen blafs, klein, geschrumpft.

Mikroskopisch nirgends Bakterien nachzuweisen. Kulturell läfst sich das Stäbchen 212 aus einem pneumonischen Herde des rechten Oberlappens rein gewinnen. Alle anderen angelegten Knlturen bleiben steril.

Tabelle IX.

Fall VIII, Protokoll Nr. 257.

Airedaleterrierrüde »Jack«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt am 30 Mai, † am 23. Juni.

	Pneumonischer Herd der rechten Lunge	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparate	0	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212 und einige wenige Kolonien Staph. pyog. aureus	steril (3 Striche)	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)

Fall IX, Protokoll Nr. 260.

Airedaleterrierhündin »Jessie«, gew. am 24. März 1904.

Am 29. Mai munter nnd frefslnstig.

Am 30. Mai leichter Husten, seröser Ausflufs ans der Nase, keine Nahrungsaufnahme. Künstliche Ernährung und Verabreichen von Staupeantigourmine.

Wechselndes Befinden. Um den 8. Juni hernm scheint eine Besserung Platz zn greifen, die ca. 14 Tage anhält. Der eiterige Nasenansflufs ist fast verschwunden, als am 23. Juni ohne äufsere Veranlassung der Zustand sich verschlimmert, insbesondere der Husten viel stärker wird.

Am 26. Jnni Früh 7 Uhr Exitus.

Sektion 5 Uhr p. m.

Das schon oft gesehene Bild. Spitze nnd nnterste Partie des Oberlappens, der ganze Mittellappen der rechten Lunge pnenmonisch infiltriert, stellenweise in Suppnration begriffen. Der gleiche Befnnd am ganzen Oberlappen der linken Lunge.

Im Herzbeutel etwas farbloses Serum.

Leber ziegelrotgelb, brüchig.

Milz auffallend grofs und pulpareich, doch eher blafs.

Nieren normal.

Magen und Darmschleimhaut ohne pathologische Veränderungen.

Mikroskopisch nirgends Bakterien nachzuweisen. Aus Herden der rechten und linken Lunge konnte das Stäbchen 212 in Reinkultur gewonnen werden. Vom Herzblut waren zwei Striche angelegt worden. In einem war nur Staph pyog. aur. gewachsen, in dem anderen fanden sich nur drei Kolonien vor; zwei gelbliche, welche aus plumpen grofsen Formen bestanden und eine weifsliche Kolonie, welche unser Stäbchen 212 ergab. Kulturen aus Leber und Milzsaft waren steril geblieben.

Tabelle X.

Fall IX, Protokoll Nr. 260.

Airedaleterrierhündin »Jessie«, gew. 2. Oktober 1903, erkrankt am 30. Mai, † am 26. Juni 1904.

	Pneumon. Herd in der rechten Lunge	Pneumon. Herd in der linken Lunge	Herzblut	Leber	Milz
Mikroskop. Befund im Ausstrichpräparate	0	0	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212 (2 Striche)	Stäbchen 212 (2 Striche)	Strich I: Staph. pyog. aur. Strich II: Zwei Kolonien plumpe grofse Bakterien, eine Kolonie Stäbchen 212 Strich III: Steril	steril (2 Striche)	steril (2 Striche)

Fall X, Protokoll Nr. 266.

Airedaleterrierrüde »Lucas«, gew. am 24. März 1904.

Am 30. Mai gesund.

In der Folge Husten, Nasenausflufs. Künstliche Ernährung, Staupeantigourmine. Eine Zeit lang scheint der Hund fast hergestellt, dann tritt eine auffallende Verschlechterung seines Zustandes ein.

Am 3. Juli Symptome von Pneumonie.

Am 6. Juli ca. 10 Uhr vormittags Exitus.

Sektion 5 Uhr p. m.

In der Bauchhöhle wenig blutig seröse Flüssigkeit. Die rechte Lunge mit Ausnahme ganz geringer Randpartien am Oberlappen in toto pneumonisch infiltriert, meist in stadio suppurationis. Der linke Ober- und Mittellappen ebenfalls gänzlich infiltriert, der linke Unterlappen bis auf einen haselnufsgrofsen Bezirk in suppuration.

Leber mäfsig brüchig, eher etwas zäh und trocken.

Milz blafs, zäh und trocken.

Der Magen- und Darmtraktns, sowie die Nieren ohne pathologische Veränderungen.

Mikroskopisch in der Lunge spärliche Stäbchen wie 212, auch Diploformen. Sonst nirgends Bakterien nachweisbar.

Kulturell gewinnen wir nur aus den pneumonischen Herden der Lunge unser typisches Stäbchen; Striche von Herzblut, Leber und Milz bleiben steril.

Tabelle XI.

Fall X, Protokoll Nr. 266.

Airedaleterrierrüde »Lucas«, gew. 24. März 1904, erkrankt am 31. Mai, † am 6. Juli 1904.

	Pneumonischer Herd linke Lunge	Pneumonischer Herd rechte Lunge	Herzblut	Leber	Galle	Milz
Mikroskopisch. Befund im Ausstrichpräparate	Wenige Stäbchen 212, auch zu zweien angeordnet	Wenige Stäbchen 212, auch zu zweien angeordnet	0	0	0	0
Kultur	Stäbchen 212 (2 Striche)	Stäbchen 212	steril (3 Striche)	steril (3 Striche)	steril	steril (2 Striche)

Fall XI, Protokoll Nr. 261.

Airedaleterrierhündin »Sitta«, gew. am 2. Oktober 1903.

Am 29. Mai gesund.

Am 30. Mai etwas Husten, seröser Nasenausfluſs. Im weiteren Verlaufe entwickelt sich der typische Symptomenkomplex der Staupe, insbesondere treten hier die nervösen Erscheinungen stark in den Vordergrund (Masseterenkrämpfe, Zucken der Beine).

Anfangs Juli starkes nervöses Zittern der Kaumuskeln bei psychischer Erregung. Der Husten verliert sich erst gegen Mitte Juli, die nervösen Symptome nehmen ab und Ende Juli scheint das Tier gesund. Ab und zu treten im Laufe der nächsten Monate noch leichte Zuckungen der Gesichtsmuskulatur auf, zurzeit (November) sind auch diese geschwunden.

Wenn wir nun den Verlauf der eben geschilderten elf Krankheitsfälle überblicken, so fällt uns vor allem der Umstand auf, dafs von 10 Todesfällen nicht weniger als 8 mit Pneumonie kompliziert waren, ja wir nehmen gar keinen Anstofs, direkt diese Pneumonien für den letalen Ausgang verantwortlich zu machen.

Nur Fall I und II sind offenbar reine Septikämien mit schweren toxischen Erscheinungen gewesen.

Über Fall I haben wir folgende Vorstellung: Die Hündin ist infolge der Berliner vielleicht schon infolge der vorhergehenden Münchener Ausstellung erkrankt. Wir sagen »infolge«, denn nachdem Lignières uns gezeigt hat, dafs in der Nase gesunder Hunde seine Pasteurella gefunden wird, scheint uns die Möglichkeit gegeben, dafs — wenn sie überhaupt der Erreger der Hundestaupe ist — insbesondere jüngere, weniger widerstandsfähige Hunde durch Strapazen und mangelhafte Ernährung, wie sie ja mit jeder Ausstellung unvermeidlich verbunden sind, in einen Zustand »minoris resistentiae« gebracht werden, so dafs der etwa vorhandene Erreger sich leicht schädigend bemerkbar machen kann. Dafs dann solche erkrankte Hunde mit ihren virulent gewordenen Keimen eine gute Infektionsquelle für andere abgeben, liegt auf der Hand. Sei dem nun wie immer, Tatsache ist, dafs Sally aus Berlin am 11. Mai sehr abgemagert (sie sah »gewachsen« aus) und hustend eintraf.

Die günstigen Lebensbedingungen, unter denen sie nun in den nächsten Tagen (11. bis 19. Mai) zu Hause wieder stand, trugen wohl im Vereine mit der natürlichen Widerstandskraft des immerhin schon über 7 Monate alten Tieres dazu bei, die erfolgte Infektion nicht in allzu schweren Symptomen auftreten zu lassen. Es mag irgendwo im Körper ein Depot von Infektionserregern den Kampf mit dem Organismus geführt haben. Durch die Reise zur Wiener Ausstellung nun, welche bei der üblichen schwerfälligen Manipulation des Bahnbetriebes die Tiere zu 48-stündiger Enthaltsamkeit von Futter und Wasser zwang, durch die Strapazen und Aufregungen der Ausstellung selbst und gewifs nicht zum Geringsten durch den wiederum zwei Tage währenden Rücktransport bei grofser Hitze (Ende Mai) sind Noxen genügend gegeben, um begreiflich erscheinen zu lassen, dafs der nunmehr äufserst geschwächte Organismus von Bakterien geradezu überschwemmt worden war, und dafs die so intensiv sich geltend machende toxische Wirkung rasch zum Tode führte.

I n d e r T a t k o n n t e n w i r a u f d e m W e g e d e r K u l t u r a u s H e r z b l u t u n d O r g a n e n, w i e w i r e s b e i s e p t i k ä m i s c h e n E r k r a n k u n g e n g e w ö h n t s i n d, e i n o v o i d e s,

dem Erreger der Hühnercholera aufserordentlich ähnliches Stäbchen gewinnen, das wir in allen anderen sezierten Fällen — oft nicht ohne Mühe — ausnahmslos wieder fanden, und das sich im Tierexperiment auch für den Hund als pathogen erwies.

Auch in Fall II (Tabelle III) war die Infektion eine so überaus heftige, dafs das ohnedies erst 8 Wochen alte Tier schon innerhalb von 30 Stunden in schwerem Koma seiner Krankheit erlag. Während wir mikroskopisch hier im Herzblut dasselbe Stäbchen nachweisen konnten, welches uns bei Fall I die Kultur geliefert hatte, bedurfte es hier erst des kleinen Kunstgriffes zweimaliger Überimpfung, bzw. der Filtration durch ein empfängliches Versuchstier (Kaninchen), um den durch einen Konkurrenten verdeckten spezifischen Mikroorganismus in Reinkultur zu erhalten.

Auffallend aber sowohl in diesen, als auch in den anderen mitgeteilten Fällen ist die Beobachtung, dafs es nur vereinzelt gelingt, schon mikroskopisch im Ausstrichpräparat die für die Staupe wohl ohne Zweifel verantwortlichen Bakterien zur Ansicht zu bringen. So konnten wir beim Hunde nur einmal (Fall II, Tabelle III) unter zehn Fällen im Herzblut das typische Bakterium mikroskopisch nachweisen und es nur viermal daraus durch die Kultur gewinnen. Letzteres war der Fall in den beiden septikämischen Fällen I und II, bei dem immerhin schon im Laufe von 6 Tagen tödlich verlaufenen Fall III und bei Fall IX. In diesem ist es wohl nur glücklicher Zufall gewesen, wenn es uns gelungen ist, aus dem Herzblute unseren Erreger zu züchten, denn das Resultat dreier Agarstriche bestand in einer einzigen Kolonie unseres typischen Stäbchens, das von begleitenden Staphylokokken fast erdrückt war. Wir haben schon oben betont, dafs die bei längerem Verlaufe der Krankheit auftretenden Sekundärinfektionen schuld daran tragen dürften, dafs der eigentliche Erreger der Staupe oft nicht mehr auf unseren Nährsubstraten zur Entwicklung gelangen kann.

In keinem unserer zehn natürlich erkrankten Fälle — mit Ausnahme des septikämischen Falles I — ist es uns gelungen,

das Stäbchen aus der Leber oder Milz zu züchten, wohl aber in den Fällen, wo wir experimentell mit der Reinkultur Hunde getötet hatten.

Ausnahmslos dagegen waren wir in der Lage, dasselbe aus den pneumonischen Herden zu gewinnen. Da aber gerade in der Lunge den Misch- und Sekundärinfektionen alle Wege offen stehen, nimmt es uns sehr wunder, dafs wir nur zweimal aufser dem typischen Stäbchen, welches sich wohl zweifelsohne bei längerem Verlaufe der katarrhalischen Affektion in der Lunge ansiedelt und so die tötlichen Pneumonien verursacht, hier andere Bakterien (Kokken) gefunden haben.

Morphologisches und kulturelles Verhalten des isolierten Kurzstäbchens.

Wir haben bereits darauf hingewiesen, dafs das von uns in sämtlichen Staupefällen, welche wir zu sezieren Gelegenheit hatten, gefundene ovale Kurzstäbchen im mikroskopischen Bilde dem Erreger der Hühnercholera durchaus ähnelt. Wir finden, allerdings meist nur wenige, kleine kurze Stäbchen (0,3-0,5:0,75-1,5 μ) mit abgerundeten Enden, die in nicht überfärbten Präparaten deutlich ausgesprochene Polfärbung zeigen. In Ausstrichpräparaten, welche aus pneumonischen Herden angefertigt waren, zeigten sich unsere Bakterien häufig zu zweien angeordnet, mit Kapseln umgeben, sehr an das Bild des Diplokokkus Fränkel-Weichselbaum erinnernd.

Diese unsere Beobachtungen stehen im Widerspruch mit den Angaben von Lignières über seinen Bazillus, wenn wir auch im allgemeinen der Ansicht sind, dafs der von Lignières in Argentinien gefundene und beschriebene Erreger der »Pasteurellose canine« wohl mit unserem europäischen Erreger der Hundestaupe nahe verwandt sein dürfte (vgl. die Kulturmerkmale auf Tabelle I). Das Stäbchen von Lignières soll ja nach dessen Beschreibung, frisch aus dem Hunde gezüchtet, ein langer Bazillus sein, der erst nach der Passage durch das Meerschweinchen seine charakteristische »kokkobazilläre« Form annehme. Eine solche merkwürdige Metamorphose konnten wir niemals beobachten; hatten wir es mit unserem typischen Stäbchen 212 zu tun, dann zeigte

es seine Form sowohl im Ausstrichpräparate als in der Kultur, abgesehen von ganz geringen Gröſsenschwankungen, immer in gleicher Weise; andere mitunter gefundene Formen (zweimal lange Stäbchen) versagten stets im Tierversuch und waren ganz gewiſs erst sekundär beteiligt gewesen. Immerhin möglich scheint uns aber, daſs es vielleicht Lignières so ergangen sein könnte wie uns bei Fall II (Sektionsprotokoll), und daſs er erst durch die Tierpassage zu einer Reinkultur gelangt sei.

Morphologisch und kulturell besteht in vielem eine gewisse Kongruenz zwischen unserem Mikroorganismus und den bisher beschriebenen Erregern der hämorrhagischen Septikämie (Hühnercholera), wenn beide auch durch ihr Verhalten auf der Kartoffel, bezüglich der Indolbildung und Milchgerinnung und ganz besonders hinsichtlich der Pathogenität auseinandergehen.

Bezüglich des Wachstums unseres Stäbchens stellt die Temperatur von 37° C das Optimum dar, doch entwickelt sich der Mikroorganismus auch bei 22° C und Temperaturen darunter in typischer Weise.

Sporen werden nicht gebildet. Der Bazillus verhält sich gramnegativ.

Auf dem Agarstrich uncharakteristischer, weiſslicher, diffuser, kräftiger, feuchtglänzender Belag, im durchfallenden Licht an den Rändern opalisierend. Gasbildung häufig. Agarstich wie bei der Hühnercholera, Nährboden durch Gasbildung oft zerrissen. In Traubenzuckeragar Gasproduktion ungemein heftig.

In der Agarplatte finden wir nach 24 Stunden hirsekorn- bis linsengroſse gelblichweiſse opake glänzende Kolonien, die im durchfallenden Lichte leicht opalisieren. Die Ränder sind meist scharf und glatt, mitunter jedoch auch leicht gekerbt, was besonders bei kleineren Kolonien in Erscheinung tritt. Die Kolonien sind oft granuliert.

Der Gelatinestrich ist nach drei Tagen mit weiſser, opaker Kultur bewachsen, die Vegetation hält sich vom Rande des Reagensgläschens fern.

Keine Verflüssigung der Gelatine.

Der Gelatinestich zeigt Nagelkultur.

In der Gelatineplatte beobachtet man nacb 3—4 Tagen Wacbstum. Die tiefliegenden Kolonien erscbeinen rund, bräunlich mit scharfem Raude. Die oberflächlichen sind oft unregelmäfsig polygonal, zart gekörnt, mit deutlicbem Vegetationszentrum.

Auf Blutserum gedeiht der Mikroorganismus, docb nicht besser als auf Agar. Wir sahen im Gegensatz zu Lignières Kulturen aus dem Tierkadaver mitunter auf Agar angehen, während sie auf Serum ausblieben.

In Bouillon tritt diffuse Trübung ein, oft auch die Bildung einer starken Kahmhaut.

Auf der Kartoffel ist das Verbalten ein und desselben Stammes (212) verschieden gewesen. Impften wir mit der direkt aus dem Hunde gezüchteten Kultur, so beobachteten wir (am dritten Tage) einen feuchten, schmierigen, weifslichen, von der Oberfläche der Kartoffel sich gut abhebenden Belag ohne Verfärbung der Kartoffel. Dieselbe Kultur, nur einmal durch das Kaninchen gegangen, wuchs mit Bräunung der Kartoffel als gelblichbräunlicher, scbmieriger Strich (3.—4. Tag) etwa so, wie wir es bei Bacterium coli zu beobachten gewöhnt sind.

(Der Lignièressche Bazillus wächst auf Kartoffel »pas de culture visible à l'oeil nu«.)

Milch wird nicht koaguliert.

Indol wird nicht gebildet.

Traubenzuckerbouillon wird kräftig vergoren.

Pathogenität.

Unser Mikroorganismus ist für eine grofse Anzahl von Tieren sehr patbogen.

Weifse Mäuse wurden durcb subkutane Einverleibung einer Öse 24stündiger Agarkultur innerhalb von 15 Stunden getötet.

Junge weifse Ratten erlagen ebenfalls rascb der subkutanen Impfung, alte Ratten erkrankten zwar, gingen aber nicht zugrunde.

Meerschweinchen erliegen der Impfung innerhalb von 48 Stunden oder nur wenig darüber.

Kaninchen zeigen sich für Impfungen mit Reinkulturen sehr empfänglich und gehen stets zugrunde, doch nicht so rasch wie bei Infektionen mit Hühnercholera. Öfters, besonders dann, wenn der Verlauf sich mehrere Tage hinzieht, finden wir an der Infektionsstelle ein sulziges, mitunter schwartiges Infiltrat, welches manchmal eine grofse Ausdehnung einnimmt.

Hühner gingen nach 48 Stunden,

Tauben innerhalb von 16—18 Stunden zugrunde.

Naturgemäfs waren die Versuche an Hunden von dem gröfsten Interesse und mögen hier einige unserer Protokolle wiedergegeben sein. Zur Zeit, als wir unsere ersten Reinkulturen aus Fall I gewonnen hatten, stand uns nur ein gewifs schon über ein Jahr alter Hund als Versuchstier zur Verfügung, den wir nur ungern in Verwendung nahmen, nachdem ja die allgemeine und unsere persönliche Erfahrung darauf hinwies, dafs mit steigendem Alter die Empfänglichkeit für das Staupevirus abzunehmen pflegt. Dennoch war der Erfolg ein sehr zufriedenstellender.

Pinscherbastard „Bubi“, Protokoll Nr. 220,

erhält am 1. Juni 1904 ein halbes Röhrchen 24stündiger Agarkultur (Fall I, Stäbchen 212) intraperitoneal injiziert.

Am 4. Juni Appetitmangel.

Am 5. Juni kränker, frifst nichts mehr.

Am 6. Juni trübe Augen, seröser Ausflufs aus der Nase. In der Folge wechselnder Befund ohne besondere Erscheinnngen.

Am 11. Juni starker typischer eiteriger Ausflufs aus der Nase.

Am 12. Juni schlechtes Gehen, Steifigkeit in der Hinterhand.

Am 13. Juni das rechte Auge ganz verklebt, Hinterhand fast gelähmt, wird nachgeschleppt.

Am 14. Juni status idem. (Vgl. Tierexperiment auf Tabelle XII, S 41.)

Am 15 Juni leichte Besserung der Lähmungserscheinungen.

Am 17. Juni Verschlimmerung.

Am 18. Juni starke Krämpfe, Gesicht ganz verfallen, das Tier kann sich nicht mehr erheben, fast agonal.

Am 19. Juni sehr starker Ausflufs aus der Nase, fast ununterbrochene Krämpfe. Exitus in der Nacht zum 20. Juni.

Sektion am 20. Juni, 11 Uhr vormittags.

Keine Ergüsse in den serösen Höhlen, keinerlei Erscheinungen von seiten der Lungen. Magen- und Darmtraktus normal.

Leber sehr brüchig und blutreich.

Milz pulpareicher als sonst bei Sektionen von Hunden beobachtet.

Mikroskopisch fanden sich in der Leber plumpe grofse Stäbchen, in der Milz äufserst zahlreiche ovale typische Stäbchen 212. Im Herzblut konnten keinerlei Bakterien nachgewiesen werden.

Die Kultur ergab aus Herzblut, Leber und Milz unser Stäbchen 212.

Ein anderer Hund, im Alter von $3^1/_2$ Monaten erhielt ein Röhrchen 24stündiger Agarkultur intraperitoneal. Wir fanden ihn am nächsten Morgen tot. Im Herzblut, Leber und Milz fanden sich überall zahlreiche typische Stäbchen vor, und auch die Kultur ergab aus allen Organen das inokulierte Stäbchen 212.

Da wir nun gesehen hatten, dafs unsere angewandten Kulturmengen unbedingt den Tod nach sich ziehen, gaben wir einem anderen ca. 3—4 Monate alten Hunde nur 3 Ösen Kultur intraperitoneal. Das Tier ist einige Tage sehr krank und magert auffallend ab, erholt sich sodann wieder ziemlich rasch. Vier Wochen nach der ersten Injektion erhält der Hund die als unbedingt tödlich erwiesene Dosis von 1 Röhrchen 24 stündiger Agarkultur intraperitoneal. Das Tier reagiert diesmal kaum, es hat offenbar durch die erste Einverleibung einen gewissen Grad von Immunität erlangt.

Derselbe Versuch, an einem anderen Hunde mit einer anderen Staupekultur wiederholt, gab das gleiche Resultat.

Auf subkutane Impfungen reagieren die Hunde nicht in so stürmischer Weise wie auf intraperitoneale. Wir erzielten durch subkutane Injektion bei einem 8 Monate alten Hunde zunächst eine starke Reaktion an der Injektionsstelle. Die Umgebung derselben schwoll mächtig an, war sehr schmerzhaft, nach einigen Tagen entwickelte sich ein etwa apfelgrofser Abszefs, welcher spontan aufbrach. Etwa 4 Wochen nach der Infektion entwickelte sich eine leichte Konjunktivitis beider Augen und eitriger typischer Ausflufs aus der Nase trat auf. Der Hund war sehr herabgekommen und erholte sich nicht mehr. Er ging an zunehmender Kachexie ca. 3 Monate nach seiner Infizierung zugrunde.

Ein anderer Versuch sollte uns Aufklärung bringen, ob zwischen der Pneumonie und unserem Stäbchen wohl ein ätiologischer Zusammenhang mit Recht angenommen werden könne.

Bastardhund. Protokoll Nr. 230.

Zirka 10 Wochen alt, Wurfbruder zu Fall VII (Tabelle VIII).

Am 13. Juni inhaliert der Hund durch 20 Min. lang eine Aufschwemmung unserer Reinkultur mittels des Buchnerschen Zerstäubers.

Am 14. Juni und den folgenden Tagen sehr schläfrig.

Am 17. Juni seröser Ausflufs aus der Nase.

Am 19. Juni typisches Nasensekret, sehr krank.

Am 20. Juni Husten.

In der Folge wechselndes Befinden, das sich anfangs Juli verschlechtert. Das Tier wird am 12. Juli Früh tot aufgefunden.

Sektion. Der Oberlappen der rechten Lunge zur Hälfte pneumonisch infiltriert, teilweise in Suppuration, der Mittellappen zur Gänze vereitert, im Unterlappen einige pneumonische Herde. Ober- und Unterlappen der linken Lunge frei, im Mittellappen zwei gröfsere pneumonische Herde.

Leber brüchig, mäfsig blutreich.

Milz zäh, blafs.

Die linke Niere hydronephrotisch.

An Magen- und Darmtraktus nichts Pathologisches.

Mikroskopisch fanden sich in den pneumonischen Herden zahlreiche Bakterien wie Stäbchen 212, in Herzblut, Leber und Milz konnten keine Bakterien nachgewiesen werden. In der linken Niere fanden sich aufser anderen Bakterien auch polgefärbte ovale Stäbchen.

Die Kultur ergab aus den pneumonischen Herden und aus dem Herzblut das Stäbchen 212, vermischt mit Kokken. Die aus der Milz und Niere angelegten Kulturen zeigten das Stäbchen 212 rein. Die Kulturen aus der Leber blieben steril. Kulturen aus Herzblut auf Serum zeigten das Stäbchen 212 in Reinkultur.

Es erscheint uns also nach dem Ausfall dieses Experimentes nicht mehr zweifelhaft, dafs unser Stäbchen auch bei der Entstehung der Pneumonien in unserer Epidemie seine Rolle gespielt hat.

Durch Fütterungen mit dem in Milch verabreichten Mikroorganismus gelang es uns nicht, bei jungen Hunden Staupe zu erzeugen.

Auch das Einnähen von Organstückchen eines allerdings erst nach langer Krankheit verendeten Tieres (Fall X) konnte bei Hunden keine Erkrankung hervorrufen, doch zeigten sich hier Kaninchen als aufserordentlich wertvolle Indikatoren. Trotzdem wir bei Fall X in Herzblut, Leber, Galle und Milz weder mikroskopisch noch kulturell imstande waren, unseren Mikroorganismus nachzuweisen, gingen zwei Kaninchen, denen ein Stück Leber

bzw. Milz des Tieres unter die Haut eingenäht worden war, das eine nach 3, das andere nach 14 Tagen zugrunde, und konnten wir unser Stäbchen 212 aus den Organen der Kaninchen in Reinkultur gewinnen.

Wir haben diese Eigenschaft des Kaninchens für die Staupeerreger einen trefflichen Kulturboden darzubieten, mit Erfolg benützt, um deren Vorhandensein in den Sekreten der Konjunktiva und der Nase staupekranker Hunde nachzuweisen bzw. deren Virulenz zu prüfen. Nachfolgende Tabelle mag kurz darüber orientieren.

Tabelle XII.

Hund	Nasensekret wurde einem Kaninchen eingeimpft am	Tot nach Tagen	Reinkultur des Stäbchens wurde gewonnen aus
Pinscherbastard Protokoll Nr. 220 s. S. 38	14. Juni	7	Herzblut und Leber
Fall VIII Protokoll Nr. 257	14. Juni	34	Leber
Derselbe	17. Juni	3	Herzblut und Leber
Fall IX Protokoll Nr. 260	14. Juni	34	Herzblut nnd Leber
Derselbe	17. Juni	4	Herzblut und Leber

Ein auffallender Unterschied macht sich da bei Fall VIII und IX bemerkbar bezüglich des Ausfalles der am 14. bzw. 17. Juni mit Nasensekret vorgenommenen Inokulationen. Die an ersterem Termine geimpften Kaninchen erlagen erst nach 4 Wochen der Infektion, während die am 17. Juni infizierten Tiere schon nach 3 bzw. 4 Tagen zugrunde gingen. Da dürften wohl Quantitäts- und Virulenzunterschiede eine Rolle gespielt haben.

Als wir uns überzeugt hatten, dafs wir imstande seien, mit unseren Reinkulturen Hunde typisch krank zu machen, ja zu töten, untersuchten wir noch die Giftwirkung unserer Kulturen in Filtraten.

Ein Hund von ca. 8—9 Monaten erhielt 20 ccm Berkefeldfiltrat einer dreitägigen Bouillonkultur intraperitoneal. Am nächsten Tage zeigte sich

derselbe schwer krank, so dafs wir überrascht waren, ihn am zweiten Tage noch am Leben zu finden. Nach einem ungefähr 6—7 Tage anhaltenden schweren Somnolenzzustande wird der Hund vollständig gesund.

Empfindlicher zeigte sich das Kaninchen. Ein Hase, der 10 ccm desselben Filtrates erhalten hatte, ging unter starkem Abmagern nach 5 Tagen ein. Krämpfe wurden bei beiden Tieren nicht beobachtet.

Erwähnenswert scheint uns auch eine epidemiologisch hinsichtlich unseres Erregers interessante Tatsache.

Der letzte Todesfall im Zwinger ereignete sich am 6. Juli. Wir hatten in dem Bestreben, noch eine gröfsere Anzahl von Fällen der bakteriologischen Untersuchung zuzuführen, in den letzten Tagen des Juni einige junge Hunde in den Hundestall gebracht, doch erkrankte trotz des innigen Kontaktes mit Fall X keines der Tiere, und auch in der Folge ereignete sich kein Fall von Stallinfektion, alle blieben gesund.

Im Institut befanden sich zu dieser Zeit streng separiert eine Reihe von Hunden, welche zu den verschiedensten Versuchen mit dem Staupevirus benutzt worden und teils nicht erkrankt waren, teils schon einen gewissen Grad von Immunität erworben hatten; auch ein Hund, welcher auf subkutane Einverleibung von Reinkultur mit Abszedierung und Nasenausflufs reagiert hatte, befand sich darunter; derselbe wies jedoch zu jener Zeit keine katarrhalischen Symptome mehr auf. Alle diese Hunde wurden aus äufseren Gründen am 25. Juli in den Zwinger verbracht. Nach einiger Zeit sahen wir von neuem eine Staupeepidemie ausbrechen, welche nun sämtliche Versuchshunde dahinraffte mit Ausnahme derjenigen, welche erst kleine, dann gröfsere Dosen Reinkultur erhalten hatten und so wohl immunisiert worden waren. Es unterliegt nach der ganzen Sachlage keinem Zweifel, dafs die im Laboratorium mit Reinkulturen behandelten Tiere den ihnen anhaftenden Infektionsstoff auf die anderen Hunde übertragen haben.

Die drei in der ersten Epidemie gesund gebliebenen Airedaleterrier erkrankten auch diesmal nicht.

Dafs aufser Hunden auch die Katzen für das Staupekontagium empfänglich sind, ist eine seit langem bekannte Sache.

Wir versuchten also mit unseren Reinkulturen auch bei Katzen ein Resultat zu erzielen.

Eine Katze erhält etwa ein halbes Röhrchen 24stündiger Agarkultur intraperitoneal. Am nächsten Tage ist das Tier schwer krank und geht nach 6 Tagen zugrunde.

Die Sektion ergab eine fibrinöse Peritonitis, auch Exsudat im Herzbeutel. Mikroskopisch konnten wir in allen Organen die injizierten Stäbchen nachweisen, und die Kultur liefs in allen angelegten Röhrchen unser Stäbchen 212 in Reinkultur erkennen.

Eine zweite Katze, welche mit der eben erwähnten den Käfig geteilt hatte, ohne künstlich infiziert worden zu sein, fing ungefähr eine Woche nach dem Tode ihrer Gefährtin an zu kränkeln, stark abzumagern und ging nach weiteren 8 Tagen ein.

Die Sektion zeigte uns eine schwere Pneumonie der rechten Lunge, wie wir sie so häufig bei unseren Hunden gesehen hatten.

Mikroskopisch und kulturell konnten wir in den pneumonischen Herden, im Herzblut, Leber und Milz die typischen Stäbchen nachweisen, die wir der anderen Katze inokuliert hatten.

Das zweite Tier war also einer reinen Kontaktinfektion erlegen.

Übersicht.

Wir glauben, im vorhergehenden durch den Ausfall unserer Tierexperimente an Hunden und an der Katze wohl zur Genüge klargelegt zu haben, dafs ein ätiologischer Zusammenhang zwischen unseren aus staupekranken Hunden gewonnenen Kulturen und der Erkrankung unserer Versuchstiere bestanden hat. Es ist uns zweifellos gelungen, durch Einverleibung unserer Reinkultur bei Hunden jene Krankheitsformen hervorzurufen, welche man als die katarrhalische und nervöse Form der Staupe bezeichnet, ja wir konnten sogar durch Inhalation unseres Erregers den Ausgang in Pneumonie, wie ihn uns die meisten Fälle unserer Zwingerepidemie dargeboten hatten, künstlich hervorrufen.

Es sei bei dieser Gelegenheit hervorgehoben, dafs wir in keinem unserer zehn genauest beobachteten Fälle imstande waren,

das pustulöse Exanthem, dessen differentialdiagnostischen Wert manche Autoren so ausdrücklich betonen, konstatieren zu können. Die in unserer Epidemie so gut ausgesprochenen Symptome, als seröse, später eitrige Konjunktivitis, erst seröser, später eitriger Nasenausflufs, Husten, Krämpfe tonisch-klonischer Form, Paresen der Nachhand, Pneumonie, sind wohl schon an und für sich so beweisend, dafs wir die Sicherung der Diagnose »katarrhalische und nervöse Form der Staupe« wohl nicht erst von dem Auftreten der »Staupepusteln« abhängig zu machen brauchten. Wir haben im Gegenteil die Überzeugung gewonnen, dafs Staupe durchaus ohne jedes Exanthem verlaufen kann, und möchten hier nochmals die Ansicht mancher Autoren registrieren, dafs das Staupeexanthem lediglich als eine Sekundärinfektion aufzufassen sei, eine Ansicht, die in neuester Zeit Lignières mit Hartnäckigkeit gegenüber Trasbot verficht, der ja überhaupt die Hundestaupe, wie eingangs erwähnt, als eine Pockenkrankheit aufgefafst sehen will.

Von grofsem Interesse ist es für uns, ein Urteil darüber zu gewinnen, in welchem Verhältnis der von Lignières beschriebene Erreger der »Pasteurellose canine« zu unserem Mikroorganismus steht.

Wir haben bei Besprechung der Literatur uns bereits ausführlich mit der Arheit von Lignières beschäftigt und hervorgehoben, dafs dieser Forscher seinen Kokkobazillus in die selbst konstruierte Gruppe der Pasteurella einreiht und dafs er die Zugehörigkeit zu dieser Gruppe streng umschrieben hat.

Bezüglich der Stellung von unserem Mikroorganismus im Bakteriensystem sind wir der Ansicht, dafs derselbe seinem morphologischen und biologischen Verhalten nach in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie (Hueppe, Kitt) gehöre.

Lignières verlangt unter den Kriterien der Pasteurellose, dafs der »microbe ne donne aucune culture visible sur la pomme de terre«, eine Forderung, die unser Bazillus, wie wir bereits dargetan haben, nicht erfüllen kann. Fehlt nun unserem Stäbchen

für seine absolute Identität mit der »Pasteurellose canine« das gleiche Verhalten auf der Kartoffel, worauf Lignières ein vielleicht doch zu grofses Gewicht zu legen scheint, so ist dies aber nicht der einzige Unterschied, der zwischen unseren Mikroorganismen zu verzeichnen ist. Wir haben schon oben darauf hingewiesen, dafs unser Stäbchen 212 von Anfang an seine typische Form besitzt und behält, während der Erreger des französischen Autors erst nach Tierpassage (!) die »charakteristische Form« annehmen soll, eine Eigenschaft, welche in der Biologie der Bakterien wohl noch niemals verzeichnet wurde.

Auch in der Bouillon verhält sich das Stäbchen 212 anders als die Pasteurellose canine. Während letztere Flocken bildet, die zu Boden sinkend die Bouillon ungetrübt lassen, trüben unsere Stämme ausnahmslos die Nährbouillon und bilden eine Kahmhaut. Bezüglich der Eigenschaft der Pasteurellose canine, mitunter auf Serum noch zu wachsen, wenn Agar versage, können wir gegenteilige Erfahrungen vermelden, ohne jedoch dem Zufall eine mögliche Rolle absprechen zu wollen.

Der Angabe Lignières', er habe frisch aus dem Hund gezüchtete Kulturen für andere Tiere wenig viruleut gefunden, müssen wir auf Grund unserer Experimente widersprechen.

Immerhin aber möchten wir mit diesen Differenzen, welche sich vielleicht aus der Verschiedenheit klimatischer Einflüsse und verschiedenen Laboratoriumsbedingungen ableiten lassen, nicht eine absolute Artverschiedenheit konstruieren. Denn in den grofsen Grundzügen sowohl biologischer als kultureller Natur scheinen uns der von Lignières in Argentinien und der von uns hier isolierte Mikroorganismus viele gleiche Eigenschaften zu besitzen (vgl. Tab. I). Ob nun die »Pasteurellose canine« Lignières' und unser »Stäbchen 212« identisch sind, kann wohl nur durch einen unter gleichen Laboratoriumsbedingungen vorgenommenen Vergleich seiner und meiner Reinkulturen entschieden werden.

Immunität.

Im allgemeinen galten durch lange Zeit die Aussichten, eine verläfsliche und andauernde Immunität gegen Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie zu erreichen, nicht für besonders günstige. In neuester Zeit hat jedoch Kitt [57] über recht ermutigende Resultate bei Hühnercholera berichtet, und auch Lignières [29, 55] spricht von befriedigenden Resultaten, die er mit seinen verschiedenen Pasteurellosen zu verzeichnen habe. Phisalix [31, 56] bringt uns eine Zusammenstellung von Impfresultaten, die sehr günstig ausgefallen ist, doch macht ihm Lignières mancherlei Einwände. Es gehört nicht in den Rahmen der heutigen Mitteilungen, auf die Methoden und Resultate der beiden Franzosen näher einzugehen, doch möchten wir unseren Bericht nicht schliefsen, ohne darauf hingewiesen zu haben, dafs die von uns auf Seite 39 erwähnten Hunde zweifellos durch Verabreichung kleiner Kulturmengen gegen die tödliche Dosis widerstandsfähig gemacht worden waren.[1])

1) Wir wollen noch in Kürze erwähnen, dafs wir versucht haben, unser wertvolles Material an Hunden durch therapeutische Eingriffe zu retten. Gerade in der letzten Zeit wufsten kynologische Zeitschriften viel Rühmenswertes über ein neues, angeblich spezifisches Heilmittel gegen Hundestaupe zu berichten. Dieses »Staupeantigourmine« benannte Mittel ist ein »Dauerpräparat« von Bierhefe, und wird von der Aktiengesellschaft für industrielle Bakteriologie »la Zyma« in Montreux (Schweiz) in den Handel gebracht.

Wir behandelten mit diesem Präparat, uns genauest an die demselben beigegebene Gebrauchsanweisung haltend, fünf Hunde (Fall III, IV, V, IX und X), während wir drei Hunde (Fall VI, VII und XI) als Kontrolltiere unbehandelt liefsen. Sämtliche mit Staupeantigourmine behandelten Hunde gingen zugrunde, von den Nichtbehandelten starben zwei, einer (Fall XI) blieb am Leben. Wir können also nach dem Ausfall unserer Versuche dem in Prospekten sehr marktschreierisch angepriesenen Präparate auch nicht die geringste Heilwirkung zusprechen. Nicht unerwähnt bleibe, dafs die Gebrauchsvorschrift die Anwendung anderer Mittel zu gleicher Zeit mit der Antigourmine ausdrücklich verbietet, da hierdurch die Heilkraft derselben beeinträchtigt und die Wirkung vollständig verhindert werde. Der Preis von 5 Mark für 300 g macht, da man grofse Mengen des Präparates zu verabreichen gezwungen ist (z. B. 9 Efslöffel täglich für einen über 8 Wochen alten Hund grofser Rasse), die Behandlung zu einer recht kostspieligen Sache.

Schlufssätze.

1. Wir haben aus einer Reihe von Hunden, welche an katarrhalischer und nervöser Staupe zugrunde gegangen waren, und zwar aus sämtlichen Tieren, ein und dasselbe Kurzstäbchen isoliert und gezüchtet.
2. Dieses Stäbchen gehört biologisch, morphologisch und kulturell in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie (Hueppe, Kitt).
3. Wir waren imstande, durch Inokulationen mit diesem Stäbchen bei Hunden das Krankheitsbild der katarrhalischen und nervösen Staupe hervorzurufen und halten dasselbe für den Erreger der Hundestaupe.
4. Wir schlagen für dieses von uns isolierte und beschriebene Stäbchen den Namen »Bacillus caniciduse« vor.

Literatur.

1. Friedberger und Fröhner, Lehrbuch der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere, 6. Aufl., 1904.
2. Laosson, Inaug.-Diss., Dorpat, 1882, zit. nach Friedberger und Fröhner.
3. Taplin, Stallmeister oder neuere Rofsarzneikunde, nebst einem Anhang über die Hundeseuche, 1797.
4. Donauer, Vorschläge zur zweckmäfsigen Behandlung kranker Hunde. Marburg und Kassel, 1815.
5. Waldinger, Abhandlung über die gewöhnliche Krankheit der Hunde. Wien und Triest, 1818.
6. v. Gemmeren und Mecke, Anweisung zur Vorbauung und Heilung der gewöhnlichen Krankheiten der Hunde. Münster, 1833.
7. Delabère-Blain (aus d. Französ. v. P. Eckert), Handbuch über die Krankheiten der Hunde, 1834.
8. Karle, Rep. 1844, S. 117.
9. Trastowo, zit. bei Friedberger und Fröhner, s. o.
10. Trasbot, Recueil 1868, 1885, A. d'Alfort, 1879.
11. Venuta, Il med. vet., 1873.

12. Krajewski, Öst. Revue, 1881, Nr. 12, 1882, Nr. 1—7 u. 9, ausführliche Literaturangaben. D. Z. f. T., 1887, S. 324.
13. Dupuis, Recueil, 1887.
14. Konhäuser, Öst. M., 1884, Nr. 8.
15. Semmer, Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin, 1875, S. 204.
16. Rabe, Wiener tierärztliche Wochenschrift, 1883, S. 126.
17. Friedberger, M. J. B. 1877/78, S. 64, 1882/83, S. 52, 1886/87, S. 34, 1888/89, S. 47, 1889/90, S. 140. V. f. Tierärzte, 1881, Heft 5—7 mit Literaturangaben.
18. Mathis Journal de Lyon 1887, zit. nach Friedberger und Fröhner.
19. Marcone und Meloni, Giorn. di A., 1888.
20. Jacquot und Legrain, Recueil, 1890.
21. Galli-Valerio, Clin. vet, 1895, S. 131, und Der Mikroorganismus der Hundestaupe. C. f. B., 1896, Bd. XIX, S. 694.
s. auch la meningo-mielite da cimurro. Il moderno zooiatro, 1893, Nr. 12.
22. Babes und Barsanescu, zit. nach Vecchia (la clinica veterinaria, 1896, p. 122), vgl. auch Jahresbericht von Ellenberger und Schütz, 1896, S. 68.
23. Millais, The Vet., 1896.
24. Jensen, Maanedskr. f. Dyrl., 1895 u. 1896.
25. Taty et Jacquin, Sciences médicales de Lyon, 1898, Nr. 44. Dieselben, Maladie du jeune chien. Lyon médical, 1898, p. 261.
26. Jefs, Berl. t. W., 1899, S. 227. Der Bazillus der Hundestaupe (febris catarrhalis epizootica canum). C. f. B., XXV, 1899, S. 541.
27. Petropawlowsky, Zur pathologischen Anatomie und Bakteriologie der Hundestaupe. Russisches Archiv für Pathologie, klin. Med. u. Bakteriologie, Lief. 6, 1899, ref. Jahresbericht von Ellenberger und Schütz, 1899, S. 84.
28. Mari, ref. im Jahresbericht von Ellenberger und Schütz, 1899.
29. Lignières, Contribution à l'étude et a la classification des Septicémies hémorrhagiques. Laboratoire de l'Association des Hacendados. Buenos Aires, Imprimerie Coni frères, 684 rue Perú, 1900, und Société centrale de médecine vétérinaire, 28 juin 1900.
30. Kitt, Septikämie der Vögel (Hühnercholera) im Handbuch der pathog. Mikroorganismen von Kolle und Wassermann, II. Bd., 1903. Derselbe, Septicaemia haemorrhagica s-pluriformis. Ebenda.
31. Phisalix, Recherches sur la maladie des chiens. Vaccination du chien contre l'infection expérimentale. Comptes rendus des Séances de l'Académie des Sciences (Paris), 9. Avril 1901.
32. Derselbe, Académie des Sciences und Société de Biologie, 1898.
33. J. Lignières, Sur le microbe de la »Maladie des chiens« Pasteurellose canine. Recueil de médecine vétérinaire«, Nr. 14, 30 Juillet 1903, und »Sur la vaccination contre la Maladie des chiens« mit Diskussion (Trasbot), ebenda, S. 340 ff.
34. Schantyr, Untersuchungen über die Mikroorganismen der Hundestaupe. Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin und vgl. Pathologie, XVIII, 1892.
35. Klett, Die Stuttgarter Hundeseuche. Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 1899, Nr. 5—8.

36. Albrecht, Eine Hundeseuche in München. Ebenda, 1899, Nr. 21, 22.
37. Scheibel, Eine eigenartige im Herbst 1898 unter den Hunden Frankfurts beobachtete Krankheit. Berliner tierärztl. Wochenschr., 1899, Nr. 7 u. 8.
38. Richter, »Über die Hundeseuche«. Berliner tierärztl. Wochenschr., 1900, S. 413 u. 424.
39. Mattel, Die Stuttgarter Hundeseuche. Österr. Monatsschrift für Tierheilkunde, 1900, S. 491.
40. Tremmel, Die Stuttgarter Hundekrankheit in Wien. Tierärztliches Centralblatt, 1900, Nr. 28, S. 453.
41. Gundelach, Gastroenteritis haemorrhagica. Archiv für Tierheilkunde, XXVII, 1901, S 308.
42. Zschokke, Die Hundeseuche. Schweizer Archiv für Tierheilkunde. 1900, S. 241.
43. A. Trévisan, La moria dei cani a Francoforte ed a Stoccarda come a Venezia. Il moderno zoolatro, 1899, p. 247.
44. Huet, Brun et Frégis, Discussion à la Société de médecine vétérinaire pratique Bulletin, 1899, p. 76.
45. Guillemard et Chigot, Epizootie sur la race canine. Notes sur la gastro-entérite. Bulletin de la Société de médecine vétérinaire pratique. 1899, p. 101.
46. Ducourneau, Gastro-entérite dysentérique ou hémorrhagique du chien. Société centrale de médecine vétérinaire, 1899, p. 316.
47. Ben Danou, Sur une affection gastro intestinale adynamique et athermique chez le chien et chez le chat. Revue vétérinaire, 1900, p. 293.
48. E. Bimes et E. Sérès, Le Typhus du chien (Pasteurellose canine de Lignières). Toulouse chez Lagarde et Sebille, 1901.
49. Mouquet, Recueil de médecine vétérinaire. 30 Juillet 1903, Nr. 14, Diskussion.
50. M. Butel, Recueil de méd. vét. 30 Juillet 1903, Nr. 14, Diskussion.
51. Ch. Bisanti, De la flore microbienne du chien. Rec. de médecine vét. 30 Avril 1903, Nr. 8.
52. Boschetti, Sulle classificatione pathologiche a proposito di Pasteurella e Pasteurellosi. Giorn. della R. Società e Accad. Veterin. Italiana, 1901, Nr. 14.
53. Montfallet, Etudes d'anatomie pathologique et de bactériologie comparée. Santiago de Chile. 1901, p. 44.
54. Kitt, Lehrbuch der patholog. Anatomie der Haustiere, 1900, Bd. I, S. 152.
55. Lignières, La Vaccination contre les Pasteurelloses. Académie des Sciences (Paris), 20. Mai 1902.
56. Phisalix, Maladie des jeunes chiens (Statistique) le Progrès médical Nr. 24, 14. Juni 1902.
57. Kitt, Immunität und Schutzimpfungen bei Geflügelcholera. Handbuch von Kolle und Wassermann, 21.—25. Lief., 1904.

Über die Aufnahme von Bakterien durch den Respirationsapparat.

Von

Prof. M. Ficker.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Nachdem es durch Verfütterung leicht wieder zu erkennender saprophytischer Keime sichergestellt war[1]), daſs die Schleimhaut des infantilen Magendarmtraktus nicht als keimdicht angesehen werden kann, muſste sich die Frage aufdrängen, ob denn diese Eigentümlichkeit der Magendarmschleimhaut allein zukomme, oder ob nicht der jugendliche Organismus, entsprechend seiner allgemein gröſseren Infirmität, auch anderwärts zunächst nur mit unzureichenden Schutzmitteln gegenüber dem Eindringen von Mikroorganismen ausgestattet sei. Es lag nahe, hierbei das Augenmerk zunächst auf den Respirationsapparat zu richten.

Der Lösung unserer Frage kann man näher treten, wenn man jungen Versuchstieren entweder kulturell gut charakterisierte, in der Luft der Untersuchungsräume nicht vorhandene, oder aber mikroskopisch gut differenzierbare Bakterien mit der Atemluft verabreicht, um im ersten Falle durch die Kultur, im letzteren Falle durch Schnittfärbungen ihr weiteres Schicksal zu verfolgen.

In den folgenden Versuchen wurde das erstere Verfahren zur Anwendung gebracht.

1) M. Ficker, Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 179.

In einem besonderen, abgelegenen Zimmer wird in einen sonst als Trockensterilisator benutzten doppelwandigen Eisenblechkasten mit den Innenmafsen 30 × 24 × 20 cm das Versuchstier eingesetzt, der Schrank verschlossen und sodann durch die für das Thermometer bestimmte Öffnung das Ausführungsrohr des Buchnerschen Sprayapparates unter Wattedichtung eingeführt. In dem Sprayapparat befindet sich eine wäfsrige Suspension von Prodigiosus oder Rotem Kieler. Der Ballon des Gehläses wird alle 2—5 Minuten aufgeblasen. Nachdem das Tier eine bestimmte Zeit diesem Spraynebel ausgesetzt war, wird es in Sublimattücher gehüllt, durch Stich getötet, abgebalgt, mit Sublimat abgewaschen und auf einem mit Sublimat befeuchteten Sektionsbrett aufgespannt, dieses wird sofort nach dem Sektionszimmer transportiert, wo die Sektion sogleich stattfindet. Das Versprayen und Abbalgen, dann das Überbringen und weiterhin das Sezieren wird von drei verschiedenen Personen ausgeführt, die hierbei untereinander nicht in Berührung kommen durften. Während der Dauer der Sektion waren auf dem Arbeitsplatz sechs Luftplatten exponiert. Es zeigte sich, dafs auf diese Weise eine Verbreitung der verstäubten Keime nach dem Sektionsraum in keinem Falle eintrat. Beim Öffnen des Inhalierkastens war es unvermeidlich, dafs sich die Keime des Kastens der Zimmerluft beimischten, in der Tat wiesen die aufgestellten Luftplatten bis 4 m im Umkreis die verstäubten Keime auf. Einer Verschleppung dieser Keime wurde dadurch in wirksamer Weise vorgebeugt, dafs von den drei am Versuch beteiligten Personen keine die Zimmer der andern betreten durfte, ein Öffnen der Türen erfolgte nur so weit, dafs das Sektionsbrett durchgereicht werden konnte. Im übrigen wurden dieselben technischen Mafsnahmen befolgt, wie sie in dieser Zeitschrift, Bd. 52, S. 179 ff. von mir geschildert sind.

Versuch 1.

Kaninchen, grau, 8 Tage alt, 160 g; verbleibt 1¾ Stunden im Inhalierkasten. Zum Versprayen kommt eine Aufschwemmung von 3 Ösen 16 Stunden lang bei 27° gezüchteter Prodigiosusagarkultur in 15 ccm sterilis. Leitungswasser. Von Blut und Organen werden insgesamt 45 Bouillonröhrchen geimpft. Die Überimpfung der angegangenen Röhrchen auf Kartoffel ergibt, dafs alle 4 Röhrchen von Lunge, sowie 2 Röhrchen von Herzblut Prodigiosus enthalten.

Versuch 2.

Kaninchen, grauweifs I, 8 Tage alt, 152 g; verbleibt 2½ Stunden im Inhalierkasten. Geimpft werden mit Blut und Organen 42 Bouillonröhrchen. Alle 5 Lungenröhrchen, 1 Röhrchen mit Herzblut, 1 mit Leber, enthalten Prodigiosus.

Versuch 3.

Kaninchen, grauweifs II, 5 Tage alt, 102 g; verbleibt 1¾ Stunden im Inhalierkasten, gesprayt wird 1 Stunde lang, dann ¾ Stunden lang nicht. Zum Verstäuben kommt eine Aufschwemmung von einer 1 Tag alten Agarkultur (27°) vom Roten Kieler in 15 ccm sterilisiertem Leitungswasser. Von 51 geimpften Röhrchen enthalten alle 4 Lungenröhrchen, 5 Blutröhrchen, 2 Leberröhrchen Roten Kieler.

Versuch 4.

Meerschweinchen, schwarzgelb, 3 Tage alt, 68 g; verbleibt 2 Stunden 10 Minuten im Inhalierkasten. Zum Versprayen kommt eine Suspension von 5 Ösen Agarkultur des Roten Kielers (1 Tag, 27°) in ca. 15 ccm sterilis. Leitungswasser. Gesprayt wird 1 Stunde lang, darnach 1 Stunde 10 Minuten lang nicht. Von 41 geimpften Bouillonröhrchen enthalten 4 Röhrchen mit Blut Roten Kieler. Lunge war nicht auf Roten Kieler geprüft.

Versuch 5.

Meerschweinchen, schwarz, 2 Tage alt, 58 g; verbleibt 2 Stunden im Inhalierraum. Prodigiosusspray (5 Ösen Agarkultur, 1 Tag, 25°, in 15 ccm sterilis. Leitungswasser). Von den ca. 40 geimpften Bouillonröhrchen enthalten alle 3 Lungenröhrchen, sowie 3 Blutröhrchen Prodigiosus.

Versuch 6.

Meerschweinchen, gelbschwarz, 2 Tage alt, 63 g; verbleibt 1¾ Stunden im Inhalierraum, gesprayt wird mit Prodigiosussuspension (5 Ösen Agarkultur, 1 Tag, 27°, in ca. 20 ccm Wasser) 1 Stunde lang, ¾ Stunden lang nicht. Von 38 geimpften Bouillonröhrchen enthalten beide Röhrchen mit Lunge, 2 mit Blut Prodigiosus.

Um einen Einblick in den Gehalt der Inhalationsluft an verstäubten Keimen zu gewinnen, wurden am Schlufs des 3. und 6. Versuchs je 100 ccm Luft aus dem Isolierraum entnommen, in 50 ccm sterilen Wassers aufgefangen und hiervon Keime gezählt. Es ergab sich, dafs in 100 ccm Luft im 3. Versuch 52000, im 6. Versuch 15200 vorhanden waren.

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, dafs **bei allen sechs säugenden Versuchstieren, die einem Spray von Prodigiosus oder Rotem Kieler ausgesetzt waren, ausnahmslos im Blut, in zwei Fällen auch in der Leber die verstäubten Keime enthalten waren.** Da der Aufenthalt im Inhalierkasten im Mittel nur 2 Stunden betrug und die Sektion sich sofort anschlofs, so kann hier von einer Vermehrung der inhalierten Keime, von einer Infektion, nicht die Rede sein, zumal wir wissen, dafs der Prodigiosus im Kaninchenkörper (Halban)[1], und speziell in der Kaninchenlunge (Paul)[2] schon in den ersten Stunden nach der Einführung einen starken Rückgang erfährt.

1) Halban, Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch., Wien, CV, Abt. III, Dez. 1896.

2) Paul, L., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 499.

Durch die angeführten Versuche wird jedoch die eingangs gestellte Frage noch nicht einwurfsfrei beantwortet; es braucht doch die Keimaufnahme nun nicht notwendig vom Respirationstraktus aus erfolgt zu sein: die inhalierten Mikroorganismen können an der Kreuzungsstelle des Respirations- und Verdauungstraktus auch den Weg nach dem letzteren einschlagen und könnten somit von der Magendarmschleimhaut aufgenommen sein. Auch wird daran zu denken sein, dafs das im Inhalierraum gehaltene Tier, selbst wenn es so eingestellt wird, dafs es mit der Schnauze weder sein Fell noch die mit Keimen bedeckte Wand berühren kann, doch auch per os Keime aufnehmen wird. In Wirklichkeit war indessen bei den vorliegenden Versuchen diese Aufnahme per os oder die Zahl der hinuntergeschluckten Atmungskeime nicht sehr bedeutend. Bei Kaninchen 1 enthielt der Ösophagus 15 Prodigiosuskeime, beim 2. Kaninchen 3. Vom Mageninhalt des 1. Kaninchens enthielt 1 Öse im Mittel von 4 Untersuchungen 5 Prodigiosuskeime, beim 2. Kaninchen konnte im Magen überhaupt kein Prodigiosus nachgewiesen werden, dasselbe gilt vom Darm beider Tiere. Aber auch aus folgendem Grunde ist anzunehmen, dafs bei unseren Versuchstieren der Magendarmkanal an der Keimaufnahme unbeteiligt war: im Verlaufe der Verfütterungsversuche bei säugenden Kaninchen konnte ich feststellen, dafs der Nachweis von Prodigiosus im Blut oder in den Organen von ca. 180 g schweren Kaninchen nur nach der Verabreichung von 3 Ösen eintägiger Prodigiosuskultur gelang, bei kleineren Dosen nicht. In den vorliegenden Inhalationsversuchen ist aber ungleich weniger Keimmaterial in den tubus alimentarius gelangt; bei Versuch 3 stellte ich fest, dafs von der Suspension einer Agarkultur (d. s. ca. 10 Ösen) in 15 ccm Wasser während einer Stunde Verstäubens nicht mehr wie 0,3 g verbraucht wurden, es berechnet sich damit $^1/_5$ Öse Kultur als im ganzen verstäubte Keimmenge. Hiervon aber kommen so geringe Mengen auf den Verdauungstraktus, dafs dieser für den Übertritt der Keime nicht in Frage kommen dürfte.

Es könnte aber auch die Nasen- und Pharynxschleimhaut als Eingangspforte angesehen werden. Aus diesem Grunde

wurden in weiteren Versuchen die oberen Partien der Luftwege durch Tracheotomie ausgeschaltet, um die versprayten Keime direkt von der Trachealkanüle aus inhalieren zu lassen.

Versuch 7.

Kaninchen, grau, ca. 10 Tage alt, 145 g, wird tracheotomiert. Das rechtwinklig abzweigende, zur Exspiration bestimmte Stück des T-förmigen Glasrohrs wird mit einem Gummischlauch in Verbindung gebracht, der zum Fenster hinausführt. Das dem Trachealrohr entgegengesetzte Ende wird durch Gummischlauch, der eine Klemme trägt, mit einem den Kautschukstopfen des unteren Auslasses einer 2 Liter-Auslaufflasche durchsetzenden Glasrohr verbunden. Die obere Flaschenöffnung ist mit doppelt durchbohrtem Stopfen versehen, der zwei Glasröhren trägt: die eine ist sehr weit und mit Watte verschlossen, die andere ist mit dem Ausführungsrohr eines Buchnerschen Sprayapparates verbunden. In diesem befindet sich eine Suspension von einer 16—20 Stunden alten, bei 27° gezüchteten Prodigiosus-Agarkultur in ca. 10 ccm Leitungswasser. Bei geschlossen gehaltener Klemme wird die Auslaufflasche durch etwa 20maligen Ballonhub gefüllt, darnach Öffnen der Klemme, so dafs das Tier die prodigiosushaltige Luft einatmet. Nach 10 Minuten wiederum Verschlufs des Zuleitungsschlauches, erneute Füllung der Auslaufflasche mit Spray usf. Auf diese Weise bleibt das Tier ca. 2 Stunden aufgespannt liegen, sodann Stich, Abhalgen usf.

Prodigiosus enthalten 3 Blut- und 2 Leberröhrchen; frei von Prodigiosus sind 9 Röhrchen von Blut, 12 von Leber, 2 von Milz, 6 von Nieren und 2 von Herz.

Versuch 8.

Kaninchen, grauweifs, 160 g, Alter unbekannt. Anordnung wie Versuch 7. Das Tier bleibt im ganzen 1 Stunde 25 Minuten in Sprayatmung, nach einer weiteren $^1/_2$ Stunde Wartens Stich usf. Prodigiosus ist enthalten in 2 Röhrchen von Blut. 6 Röhrchen von Blut, 15 von Leber, 2 von Milz, 4 von Niere sind negativ.

Versuch 9.

Kaninchen, grau, 5 Tage alt, 107 g. Anordnung wie oben, nur wird anstatt Prodigiosus Roter Kieler verstäubt. Die Kanüle bleibt 1 Stunde 10 Minuten lang mit der Auslaufflasche in Verbindung, nach $^3/_4$ Stunden Wartens Stich. 3 Blutröhrchen enthalten Roten Kieler, die übrigen 4 Röhrchen von Blut, 17 von Leber, 2 von Milz, 4 von Niere sind negativ.

Zum Vergleich wurden folgende Inhalationsversuche an tracheotomierten erwachsenen Kaninchen vorgenommen:

Versuch 10.

Kaninchen, gelb I, 2050 g. Als Spray dient eine Suspension von einer eintägigen Prodigiosuskultur in 6 ccm Leitungswasser. Die erneute Füllung der Auslaufflasche mit verstäubten Keimen geschieht alle 5 Minuten. Das

Tier bleibt 1½ Stunden in Sprayatmung, nach ½ Stunde Wartens Entnahme von 18 ccm Blut aus linker Jugularis, die auf 32 Bouillonröhrchen und Kolben verteilt werden. In keinem Kulturglas geht Prodigiosus an.

Versuch 11.

Kaninchen, schwarz, 1840 g. Als Spray dient eine Suspension von zwei Agarröhrchen (1 Tag, 27°) Rotem Kieler in 5 ccm Leitungswasser. Das Tier bleibt 1¾ Stunden in Sprayatmung. Nach ½ Stunde Wartens Strangulation, Verteilung von Blut und Organen auf 52 Bouillon-Röhrchen und 28-Kolben. Zur Prüfung der Verteilung der inhalierten Keime in den Lungen werden vom äufsersten Rand des rechten Unterlappens und von der äufsersten linken Lungenspitze gesondert kleine Stückchen in Röhrchen übertragen. Alle 8 Gläser mit Lunge, darunter auch die beiden von den peripheren Partien geimpften, enthalten Roten Kieler. Die mit Bronchialdrüsen, sowie mit Blut und Organen geimpften Gläser sind negativ.

Versuch 12.

Kaninchen, gelb II, 1945 g. Als Spray dient eine Aufschwemmung von 2 Agarröhrchen (1 Tag, 27°) Prodigiosus in 7—8 ccm Wasser. Das Tier atmet durch die Kanüle 2¼ Stunden lang den Spray. Darnach Entblutung von rechter Karotis aus. Blut und Organe werden auf 49 Röhrchen und 31 Kolben verimpft. Von linker Lungenspitze und vom äufsersten Rand des rechten und linken Lungenunterlappens werden besondere Röhrchen mit kleinen Stückchen beschickt. Alle Lungengläser, darunter auch die letztgenannten, enthalten Prodigiosus. Die Gläser von Bronchialdrüsen, Blut und Organen sind negativ.

Es bestätigen diese Versuche einmal die schon von Nenninger[1]) und Paul[2]) festgestellte Tatsache, dafs bei erwachsenen Kaninchen durch den Inhalationsstrom in Tröpfchen suspendierte Bakterien bis in die peripheren Lungengebiete geführt werden. Ferner folgt aus meinen Versuchen, dafs bei erwachsenen Kaninchen die verstäubten Keime, selbst wenn 2¼ Stunden lang der stark keimhaltige Spray direkt von der Trachea aus inhaliert wird, im Blut oder in Organen nicht nachzuweisen sind. Im Gegensatz dazu sind bei säugenden Kaninchen ausnahmslos die inhalierten Keime im Blute, mitunter auch in Organen wiederzufinden. Die Versuche beweisen nicht, wie hervorgehoben werden mufs, dafs beim erwachsenen Kaninchen reichlich inhalierte Keime nicht doch auch in die Lymph- bzw. Blutbahn

1) Nenninger, O., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 38, S. 94.

2) a. a. O.

weitergeführt werden, denn es könnten die eingeatmeten Keime ja so rasch vermehrungsunfähig gemacht werden, dafs der kulturelle Nachweis nicht gelingt, oder aber es beansprucht dieser Übertritt beim älteren Tiere längere Zeit als die hier innegehaltene: und das ist wohl das Wahrscheinlichere, denn Arnold[1]) sah beim erwachsenen Kaninchen zeitigstens nach 3 Stunden Ultramarinstaub in den perivaskulären und peribronchialen Lymphknoten. Vielleicht ist der jugendliche Organismus zu einer besonders rasch erfolgenden Resorption befähigt. Für die Aufsaugung von Flüssigkeiten ist diese Ansicht in der Physiologie des Kindesalters von K. v. Vierordt[2]) ausgesprochen, es sind als Beleg hierfür allerdings weiter keine experimentellen Erfahrungen als diejenigen Kaupps[3]) genannt, der nach subkutaner Einverleibung von Strychnin bei jungen Kaninchen viel raschere Resorption beobachtete als bei älteren Tieren. Was den Transport von Mikroorganismen in Lymphgefäfsen jugendlicher Individuen betrifft, so fand ich in der Literatur nur von Weigert[4]) die Wahrscheinlichkeit ausgesprochen, dafs die Passage des Tuberkulosevirus in den Lymphbahnen bei Kindern leichter erfolge. Versuche in dieser Richtung wären erwünscht. Von anderen Fragestellungen, die sich aus obigen Resultaten ergeben, sind einige schon in Angriff genommen, viele jedoch liegen aufserhalb des Arbeitsgebietes des Hygienikers. Zunächst wird durch Schnittfärbungen festzustellen sein, wo der Durchtritt der inhalierten Bakterien in den infantilen Luftwegen erfolgt, ob die Alveolarsepten den Keimen besonders günstige Chancen zum Eintritt geben, wie das nach den Untersuchungen Arnolds[5]) über die Staubinhalation oder nach den Beobachtungen W. Müllers[6]) über die Entstehung der Pneumonie, insbesondere der Vaguspneumonie, angenommen werden könnte, oder ob die Alveor-

1) Arnold, J., Staubinhalation, Leipzig, Vogel, 1885, S. 39.
2) Vierordt, K. v., Physiologie des Kindesalters in Gerhardts Handb. d. Kinderkrankheiten, S. 340.
3) Kaupp, Arch. f. physiol. Heilkunde, 1855, S. 145.
4) Weigert, C., Fortschr. d. Medizin, 1883, Bd. 1.
5) a. a. O.
6) Müller, W., Arch. f. klin. Med., 74. Bd., S. 80.

epithelien selbst die Mikroorganismen aufnehmen, oder ob die Beschaffenheit der beim infantilen Organismus sicher zarteren Schleimhaut das Ausschlaggebende ist, hierbei wird an die Tätigkeit der Flimmerepithelzellen und an die namentlich durch F. Müllers[1]) Untersuchungen erwiesene wichtige Wirksamkeit des Oberflächenschleims der Luftwege zu denken sein. Bei der näheren Analyse solcher Fragen steht zu hoffen, dafs wir einen Einblick gewinnen, worin denn der Unterschied im Verhalten des kindlichen und erwachsenen Organismus gegenüber Mikroorganismen begründet ist; denn hier kommen wir mit den gern gebrauchten, aber bei naturwissenschaftlicher Betrachtungsweise recht unbefriedigt lassenden allgemeinen Erklärungen wie: erhöhte Resistenz, geringere Disposition usf. nicht aus. Die experimentelle Forschung wird dabei wohl auch mit der Frage zu rechnen haben, ob denn da, wo eine erhöhte Aufnahmefähigkeit für Mikroorganismen besteht, die Natur nicht auch auf einer andern Seite für besondere Abwehrvorrichtungen gesorgt hat.

Jedenfalls erscheint es nach den mitgeteilten Untersuchungen nicht angängig, dem tubus alimentarius des säugenden Versuchstieres allein die Besonderheit der Bakteriendurchlässigkeit zuzuschreiben, vielmehr ist der infantile Respirationstraktus mit dem gleichen Mangel behaftet. Ja, es ist sicher, dafs ungleich geringere Keimmengen dazu gehören und genügen, um von den Atemwegen aus der Blutbahn des jugendlichen Organismus zugeführt zu werden. Hat man ein solches Paradigma der Aufnahme saprophytischer Mikroorganismen aufgestellt, so ist man versucht und bis zu einem gewissen Grade auch berechtigt, für infektiöse Keime die gleichen Verhältnisse anzunehmen, es müssen diesen wohl sogar noch günstigere Chancen zuerkannt werden; zwar werden in der Wirklichkeit die im Versuch angewendeten Keimmengen nicht inhaliert, aber dafür steht auch den vereinzelten in die Atemwege eindringenden Keimen u. a. das Mittel der Vervielfältigung zu

---

1) Müller, F., Sitzungsber. d. Ges. f. Naturw. zu Marburg, 1896, S. 53.

Gebote, so dafs damit hinsichtlich der Keimzahl dem Versuch nicht nachstehende Bedingungen gegeben sind.

Wer nach dem Konstatieren der Bakteriendurchlässigkeit des infantilen Magendarmtraktus darin eine Stütze für die Anschauung sah, dafs hier die hauptsächlichste Eintrittspforte für Infektionserreger, wie z. B. für Tukerkelbazillen, zu suchen sei, wird diese Ansicht mit Hinblick auf die vorliegenden Resultate, welche die gleiche Empfindlichkeit auch dem Respirationstraktus zuschreiben, modifizieren müssen. Damit scheint die alte Frage, die bis in die jüngste Zeit hinein einen so breiten Raum einnimmt, ob Inhalations- oder Fütterungstuberkulose in den Vordergrund zu stellen sei, wiederum der Lösung nicht nähergebracht zu sein. Aber ist die Frage überhaupt lösbar und ist sie in dieser Formulierung zulässig? Wenn, wie genugsam erwiesen, der Übertritt von Tuberkelbazillen erfolgen kann, ohne dafs an der Durchtrittsstelle Veränderungen gefunden werden, so wird schon aus diesem Grunde ein Zweifel an der Lösbarkeit berechtigt erscheinen; in vielen Fällen fehlt jede Kontrolle. Vor allem aber mufs man einmal aufhören, an der einseitigen Ansicht festzuhalten, dafs die inhalierten Keime immer nur gerade nach der Lunge, und die per os aufgenommenen nur in den Magendarm gelangen. Die Verdauungs- und Atmungswege kreuzen sich, sie anastomosieren, am Ende der Wege können wir gar nicht mehr sagen, aus welcher Richtung vor der Kreuzungsstelle der Keim gekommen ist. Dafs wir inhalierte Keime im Verdauungstraktus wiederfinden, ist längst bekannt und erhellt auch wieder aus den oben mitgeteilten Untersuchungen, und anderseits ist es mir zur Gewifsheit geworden, dafs per os verabreichte Mikroorganismen, viel häufiger als man gemeinhin annimmt, ihren Weg in die tieferen Luftbahnen nehmen. Man findet hierfür schon einige experimentelle Uuterlagen in den zitierten Arbeiten von Nenninger und Paul. Ich selbst hatte, zunächst ganz beiläufig, Gelegenheit, eigene Erfahrungen zu sammeln, als ich säugenden Tieren zur Einverleibung bakterienhaltigen Materials die Bakterienaufschwemmung auf die Zunge aufträufelte: geschah dies mit 1 ccm-Pipetten des gewöhn-

lichen Kalibers, so konnten in jedem Falle die verabreichten Keime in so grofsen Quantitäten in den unteren Luftwegen nachgewiesen werden, dafs ein direktes Einlaufen aus der Mundhöhle oder ein »Verschlucken« angenommen werden mufste. Aus diesem Grunde bin ich von der Einträufelung abgekommen und habe diese Versuche als »Fütterungs«versuche überhaupt nicht gelten lassen, weil mir die Frage, ob die im Blut und in den Organen gefundenen Keime vom Magendarmkanal aus übergetreten seien, so nicht einwandsfrei lösbar erschien. Es wurden vielmehr weiterhin die natürlichen Verhältnisse möglichst nachgeahmt, indem die Bakteriensuspension bei säugenden Tieren mit Saugfläschchen zur Verabreichung kam, bei erwachsenen Kaninchen die Keime zwischen Kohlrabischeiben, bei Hunden mit Fleisch vermischt verfüttert wurden. Von den hierher gehörenden Versuchen sollen nur folgende angeführt werden.

Versuch 13.

Kaninchen, weifs, 3 Wochen alt, 375 g; erhält mit Puppensaugflasche 8 ccm einer Suspension einer Würzagarplatte (1 Tag, 27°) von Hefe Nr. 696 in 20 ccm destilliertem Wasser. Das Tier saugt stark und hastig, mehr als es schlucken kann. Wenn kleine Tropfen zwischen Gummihütchen und Lippen sichtbar wurden, wird die Saugflasche abgesetzt, bis das Tier den Überschufs hinuntergeschluckt hat. In 5 Minuten sind die 8 ccm genossen. Nach $1^1/_2$ Stunden Wartens wird das Tier mit Sublimattüchern bedeckt, stranguliert unter Halten mit Kopf nach unten, auf schrägstehendem, mit Sublimat befeuchtetem Sektionsbrett mit Kopf nach unten aufgespannt, dann in einem entfernten Zimmer seziert. Die im Umkreis des Sektionsplatzes aufgestellten Luftplatten (Würzagar) enthalten keine Kolonie von Hefe Nr. 696. Von der Trachealschleimhaut oberhalb der Bifurkation werden 2 Abstrichösen in Würze übertragen. Vom linken und rechten Unterlappen der Lungen werden an den peripheren Partien kleine Randstücke abgeschnitten und in je ein besonderes Würzröhrchen gegeben, die übrige Lunge wird auf 4 Würzröhrchen verteilt, Blut und Organe auf ca. 50 weitere Röhrchen.

Resultat: Die Röhrchen vom Trachealschleim, sowie sämtliche 6 von den Lungen enthalten Hefe 696 (durch Agglutination mit spezifischem Kaninchenserum identifiziert). In Blut und Organen keine Hefe.

Versuch 14.

Kaninchen, grau, ca. 4 Wochen alt, 510 g; erhält mittels Saugflasche, dessen Gummihütchen mit feinster Öffnung versehen ist, ca. 5 ccm einer Aufschwemmung des Belages eines Würzagarröhrchens (Hefe 696, 1 Tag, 27°) in 10 ccm Wasser Das Tier saugt gut, jedoch erfolgt wegen der Feinheit

der Saugöffnnng die Aufnahme langsam, ca. 15 Minuten. Darnach bleibt das Tier 1 Stunde in Ruhe. Tötnng, Sektion wie oben.

Resultat: Weder im Abstrich der Luftröhre, noch in den Lungen ist Hefe nachweisbar, Blut nnd Organe ebenfalls negativ.

Versuch 15.

Kaninchen, grauweifs, von demselben Wurf wie 14, 535 g; erhält von derselben Aufschwemmnng und mittels der gleichen Sangflasche wie in Versuch 14 innerhalb von 12 Minuten 5 ccm. Während der darauffolgenden Stunde wird durch zeitweiliges Znhalten von Nase und Manl mittels Tuches (12—15 mal) tiefe Inspiration eingeleitet. Tötung, Sektion wie oben.

Resultat: Von 3 mit Trachealschleim geimpften Würzagarröhrchen ist 1 positiv, von den 6 Lungenröhrchen sind 2 positiv (die peripheren Stücke negativ). Blut nnd Organe negativ.

Versuch 16.

Grofses schwarzes Kaninchen, ca. 2 kg; erhält zwischen Kohlrabi eine Agarplatte (1 Tag, 27°) von Prodigiosns, frifst alles in ca. 1/4 Stunde auf, wird während der darauffolgenden 1/2 Stunde im Zimmer herumgejagt. Darnach Tötung, Sektion wie oben.

Resultat: Prodigiosus ist nachweisbar in den 2 Trachealabstrichen. Alle Lungen-, Blut- und Organröhrchen sind negativ, ebenso die Bronchialdrüsen.

Versuch 17.

Kaninchen, gelb, 1670 g; erhält zwischen Kohlrabi eine 15 Stunden alte Agarplatte Roten Kieler, frifst innerhalb von 10 Minuten fast alles, wird in der darauffolgenden Stunde durch Einhüllen des Kopfes in ein Tuch, sowie durch ca. 10 mal auf die Trachea ausgeübten Druck zu tiefer Inspiration veranlafst. Dann Tötung, Sektion wie oben.

Resultat: Die beiden Röhrchen von der Trachealschleimhaut, 2 von der Lunge, 1 vom Rand des linken Unterlappens enthalten Roten Kieler. Alle anderen sind negativ, auch die Bronchialdrüsen.

Es zeigt sich also zunächst, dafs auch bei vorsichtigerer Art der Einverleibung der keimhaltigen Flüssigkeit, nämlich mittels Verwendung von Saugfläschchen, es nicht möglich war, die verabreichten Bakterien von den Atmungswegen fern zu halten, so lange durch die Saugbewegungen eine zu grofse Flüssigkeitsmenge der Mundhöhle übermittelt wurde. Es hat den Anschein, als ob die Selbststeuerung des Kehldeckelverschlusses bei den säugenden Tieren, zumal bei dem plötzlichen Übergang zur künstlichen Ernährung, noch nicht in der nötigen exakten Weise funktioniert, wie ja überhaupt verschiedene reflektorische Vorrichtungen des infantilen Organismus zunächst noch Mängel

aufweisen. Ich möchte betonen, dafs die Verabreichung der Bakteriensuspension in der schonendsten und vorsichtigsten Form erfolgte, und dafs es sich keineswegs um übertrieben grofse Flüssigkeitsmengen handelte. Man braucht aber diese Bakterieninvasion in die Luftwege nicht nur auf ein direktes Herabfliefsen zurückzuführen, sondern es ist sogar wahrscheinlicher, dafs die Keime erst durch die beim »Verschlucken« stofsend und ruckweise erfolgende Aspiration tiefer geführt werden. Erst durch weitgehende Verkleinerung der Ausflufsöffnung des Gummihütchens gelang es, diesen Transport der Keime nach den Luftwegen hintanzuhalten, dafs aber schon die Erzeugung tiefer Inspirationen genügt, ihnen den Eingang in die Luftwege zu verschaffen, beweist Versuch 15. Diese Aufnahme der Keime in die Lungen unter dem Einflusse tiefer Atmung erfolgt nun nicht nur bei Zufuhr von bakterienhaltigen Flüssigkeiten, sondern auch bei Verabreichung von kompakterer Nahrung, wie das aus den Versuchen an erwachsenen Kaninchen hervorgeht. Über die zu gleichen Resultaten führenden Versuche „au Hunden soll in einer demnächst erscheinenden Arbeit im Zusammenhange mit anderen Fragen berichtet werden.

Handelt es sich also um Keime, die erfahrungsgemäfs in erster Linie die Lunge als Eintrittspforte benutzen, so wird man die Frage, wie diese denn nach der Lunge gelangen, ohne Rücksicht auf die Vermittelung der Lymph- und Blutbahnen — ein Thema, das noch der weiteren Klärung durch den Pathologen bedarf — folgendermafsen beantworten können:

1. können sie durch Nasen- und Mundatmung aus der Aufsenwelt in trockenem Zustande oder in Tröpfchenform aufgenommen werden und nach den tieferen Luftwegen gelangen,
   a) sofort mit dem gleichen Atemzuge oder
   b) sie können auf der Nasen-, Rachen- oder Mundschleimhaut abgefangen und gelegentlich von der Schleimhautoberfläche aus der Lunge zugeführt werden (tiefe Inspiration, »Verschlucken«, Erbrechen usf.);

2. können sie zunächst durch Kontakt auf die Mund-, Rachen- oder Nasenschleimhaut gelangen (Fingerkontakt, bei Kindern Spielsachen usf., auf Mund- und Rachenschleimhaut mit der Nahrung), um dann denselben Weg wie sub 1b nach der Lunge einzuschlagen.

An der Hand der Kenntnisse über die biologischen Eigentümlichkeiten der einzelnen Keimarten kann man erst abschätzen, welcher dieser Infektionswege gangbarer ist als der andere.

Für den Tuberkelbazillus wird man, seitdem die Lehre seiner Ubiquität im Luftstaub widerlegt ist, der direkten Einatmung von der Aufsenluft her nicht mehr die ihr früher zugeschriebene souveräne Rolle zuschreiben, die Tröpfcheninfektion kommt nur für die nächste Umgebung der Phthisiker in Frage. Demgegenüber dürfte heute der Aufnahme der Tuberkelbazillen durch Kontakt doch eine gröfsere Bedeutung als ehedem beizumessen sein und die Ansicht, dafs die Tuberkelbazillen ihren Weg häufiger durch den Mund als durch die Nase nehmen, dürfte das Richtige treffen. Ist aber bei überwiegender Aufnahme per os die Lunge die hauptsächlichste Eingangspforte, dann müssen zwischen Mundschleimhaut und Lunge betretenere Wege existieren, als man annimmt. Wenn von manchen Autoren hierbei die Rachen- und Gaumentonsillen in den Vordergrund gestellt werden oder auf andere Verbindungswege der Lymphbahnen — Submaxillar- und Supraklavikulardrüsen — hingewiesen wird, so ist doch nicht zu vergessen, dafs aufser auf diesen Umwegen die auf der Mundschleimhaut befindlichen Keime auch auf direktem Wege, durch tiefe Inspiration, durch »Verschlucken« etc. in die Tiefe der Atmungsorgane gelangen können. Es kann eine nach diesem Modus der Aufnahme von Tuberkelbazillen in den Lungen erfolgende tuberkulöse Infektion in vielen Fällen wohl eine Inhalationstuberkulose genannt werden, obwohl die Keime zunächst durch Kontakt aufgenommen wurden; dann mufs der Begriff »aërogene Infektion«, den man für gewöhnlich nur für Infektion von in der Aufsenluft befindlichen Keimen verwendet, erweitert werden.

Der Hygieniker mufs, glaube ich, auf die Klarstellung dieser Verhältnisse einiges Gewicht legen; denn wenn diejenigen, die später berufen sein sollen, den Kampf gegen die Tuberkulose in der Praxis aufzunehmen, in der Klinik und am Sektionstisch hören, dafs der aërogenen Infektion für die Genese der Tuberkulose die gröfste Bedeutung zukomme, so könnte damit leicht die Kontaktinfektion, deren Verhütung nicht minder wichtig erscheinen mufs, unterschätzt werden.

Man wird zu dieser Einschränkung der dominierenden Bedeutung der Tuberkelbazilleninhalation nicht nur hingeführt, wenn man sich mit Zahl und Arten der Luftkeime näher befafst, sondern auch wenn man die Eigentümlichkeiten anderer von der Lunge aus wirkender Keime sich vergegenwärtigt: ich meine die hauptsächlichen Pneumonieerreger. Sollten wir denn lediglich der beiden Tatsachen wegen: einmal, dafs der Pneumococcus lanceolatus in der Lunge seine Infektionskraft entfaltet, und dann, dafs er, in Blut und in Sputum eingehüllt, das Eintrocknen bis zu 100 Tagen[1]) verträgt, glauben, dafs er in der Luft vorhanden sein müsse, und dafs die Infektion vor allem nach der Inhalation der Pneumokokken aus der Aufsenluft her erfolge? Wie oft sind die Pneumokokken bisher einwandsfrei in der Luft gefunden worden? Dafs der Keim das Austrocknen eine Zeitlang verträgt, wenn man ihn im schützenden Blut oder in dicken Sputumhüllen eintrocknen läfst, berechtigt uns nicht dazu, seine Übertragbarkeit durch die Luft anzunehmen: man müfste denn das Gleiche auch für die Choleravibrionen tun, die unter geeigneter Versuchsanordnung im trockenen Zustande noch eine Lebensfähigkeit nach 120[2]), ja nach 186 Tagen[3]) zeigen, und doch denkt niemand an eine aërogene Cholerainfektion. Vielmehr offenbart der Pneumokokkus, wie kaum ein anderer Keim, bei der Prüfung seiner biologischen Eigenschaften die parasitäre Natur, er ist, wenn man so sagen darf, endemisch in der Nasen-, Mund- und Rachenhöhle vieler Organismen und

1) Germano, E, Zeitschr. f Hygiene, Bd. 26, S. 66.
2) Guyon, Arch. d. méd. exp. et d'an. Path., 1892, Nr. 1.
3) Berckholtz, Arbtn. a. d. K. Ges.-Amt, Bd. III, S. 166.

besonders beim Menschen. Erst vor kurzem habe ich mich wieder von der Ubiquität von Pneumonieerregern in der menschlichen Mundhöhle überzeugen können, als ich in einem zahnärztlichen Fortbilduugskurs Mundspülwasser auf Mäuse verimpfen liefs: von zehn Mundhöhlen enthielten sieben den Pneumokokkus, eine den Bac. Friedländer und eine einen ebenfalls als Septikämieerreger bei der Maus wirkenden, Friedländer-ähnlichen Keim.

Wenn wir also die Aufnahme der Pneumokokken durch den Luftstaub als unwahrscheinlich annehmen müssen[1] und anderseits sicher wissen, dafs der Keim auf der menschlichen Nasen- und Mundschleimhaut einheimisch ist, so wird man z. B. den nicht zu leugnenden Einflufs der Jahreszeiten und der Witterung auf die entstehenden Pneumonien so zu deuten haben, dafs im Menschen selbst damit günstige Bedingungen für die Keime, deren Träger er ist, geschaffen werden. Es kann denn auch kein Zweifel sein, dafs der Keim von der gewöhnlichen Stätte seines Aufenthaltes aus auf die oben geschilderte Weise häufiger als man annimmt, nach den unteren Luftwegen gelangt, dafür sprechen auch die neueren Untersuchungen an normalen Lungen. Wenn nicht alle Untersucher zu dem gleichen Ergebnisse kommen und manche die normalen Lungen steril fanden, so beweist das doch nichts dagegen, dafs die gesuchten Keime zeitweilig nicht doch hier vorhanden sind, denn dafs gerade den Lungen und dem Bronchialbaum eine bedeutende selbstreinigende Kraft innewohnt, ist, zweifellos erwiesen[3]) und sogar quantitativ festgestellt[4]).

In ähnlicher Weise haben wir auch bei der Entstehung der durch Bac. Friedländer oder Influenzabazillen entstehenden Infektionen nicht in erster Linie an eine Aufnahme durch Luftstaub zu denken, sondern müssen uns für einen Teil der Fälle eine Inhalation von aufsen nur in Tröpfchenform in direkter Nähe des Kranken oder Bazillenträgers vorstellen, für den andern

1) Vgl. auch Neifser, M., Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, S. 191.
2) Gramatschikoff, Arbtn. a. d. path. Inst. Tübingen, Bd. I, S. 450.
3) Snel, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 40, S. 103.
4) Paul, L., a. a. O.

Teil kommt auch hier eine endogene Infektion in Betracht, indem die auf der Nasen oder Mundschleimhaut heimischen oder nach Tröpfcheninhalation oder nach Kontakt vorübergehend augesiedelten Mikroorganismen von hier aus die Lungeninfektion einleiten, entweder auf dem Umweg von Lymph- und Blutbahnen, oder auf aërogenem Wege (starke Inspiration usf.), oder durch direkten Import mit nach folgender Aspiration (»Verschlucken«, Erbrechen).

So drängen wohl auch die Erfahrungen mit unseren häufigsten Pneumonieerregern dazu, den Begriff der aërogenen Infektion deutlicher zu präzisieren und der Frage die weitere Aufmerksamkeit zu widmen, wie denn die mit der Mundschleimhaut in Kontakt kommenden Keime nach der Lunge gelangen. Dafs wir da häufigere Kommunikationen anzunehmen haben, mufs gerade an dem Beispiel des Pneumokokkus einleuchten, weil hier die bei der Tuberkulose in den Vordergrund gedrängte Frage der intestinalen Infektion von vornherein nicht die geringste Wahrscheinlichkeit für sich hat.

Für den beobachtenden Arzt bedarf es nicht der näheren Ausführung, dafs wir auch beim Menschen mit ähnlichen Verhältnissen, wie sie im vorstehenden das Tierexperiment nachzuahmen suchte, zu rechnen haben. Die geschilderten Arten des Keimtransportes nach den Lungen müssen insbesondere auch für Säuglinge und Kinder bedeutungsvoll sein: die Atmung des Kindes ist zunächst wohl immer ungleichmäfsig und unregelmäfsig; auffallend häufig wechseln schon für gewöhnlich, dann aber auch bei äufseren Einflüssen, die die Aufmerksamkeit des Kindes erregen, tiefe und flache Inspirationen. Ganz besonders aber kann man bei und nach dem Schreien forcierte und tiefe Atemzüge beobachten, die sicherlich entweder die beim Schreien losgeschleuderten Mund- und Rachenkeime in die tieferen Luftwege aspirieren, oder die selbst so kräftig sind, um von der Schleimhaut oberflächliche Auflagerungen hinabzureifsen. Ferner sind mit der künstlichen Ernährung Möglichkeiten des Keimimports von dem Mund nach der Lunge genug verknüpft: wie oft kann man beobachten, dafs beim ruhig liegenden Kinde das aus der

Milchflasche ausfliefsende Quantum nicht mit den regulären Schluckbewegungen fortgeschafft werden kann, dafs »Verschlucken« oder Erbrechen eintritt, es ist klar, dafs hierbei nicht nur Milch- sondern auch Rachen- und Mundkeime Eingang in die Luftwege finden, zumal ja danach auch wieder tiefe Inspirationen erfolgen. Ganz besonders fällt es auf, mit welcher Wucht die Milch aus der Flasche in die Mundhöhle des trinkenden Kindes dann eingetrieben wird, wenn es in schlecht federndem Kinderwagen über holprige Wege oder schlechtes Pflaster gefahren wird.

Wenn die mitgeteilten Ergebnisse einen Schlufs auf die Tuberkuloseentstehung beim Menschen zulassen sollten, so müssen sie geeignet erscheinen, in etwas zu vermitteln zwischen der Ansicht, dafs nur die Luft als infizierendes Medium in Frage komme und der andern, dafs die Nahrungsinfektion das Ausschlaggebende sei: der Begriff der Luftinfektion mufs eine Umwertung erfahren, ferner ist daran zu denken, dafs der Modus der Aufnahme durch die Nahrung nur einen Bruchteil der sonstigen Kontaktübertragungen ausmacht, und dafs auch für die dem Mund zugeführten Kontaktkeime die Lunge als Eintrittspforte zu gelten hat. Speziell mit Rücksicht auf die Säuglingsinfektion ist nochmals hervorzuheben, dafs die gröfsere Bakteriendurchlässigkeit dem Magendarmtraktus nicht allein, sondern auch den Atmungsorganen zukommt. Wenn es noch der Beweise bedurft hätte, dafs gerade der infantile Organismus den Infektionserregern eine breitere Angriffsfläche darbietet, so mufs die festgestellte Tatsache des geringeren Schutzes des Verdauungs- und Atmungsapparates, die der täglichen ärztlichen Erfahrung eine experimentelle Stütze gibt, dazu auffordern, noch weitergehende Mafsnahmen als die bisherigen zur Verhütung von Säuglingsinfektionen zu ergreifen.

Der „Vakuumreiniger", ein Apparat zur staubfreien Reinigung der Wohnräume.

Von

Stabsarzt Dr. **Berghaus,**
Assistenten am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Bei der grofsen Bedeutung, welche die Luft für die gesamte Tier- und Pflanzenwelt, speziell für die Gesundheit des Menschen hat, mufsten ihre Verunreinigungen, wie sie vorzugsweise durch die verschiedensten gewerblichen Betriebe hervorgerufen werden, bald die Aufmerksamkeit der Hygiene auf sich lenken und diese veranlassen, geeignete Mittel und Wege ausfindig zu machen, die nach Möglichkeit die gesundheitsschädlichen Einflüsse beseitigen oder doch abschwächen. Diese Bestrebungen der Hygiene, dank den Fortschritten auf dem Gebiete der Technik in vielen Fällen erfolgreich, fanden in fast sämtlichen Industriestaaten ihren Ausdruck in gesetzlichen Bestimmungen über den Betrieb und die Einrichtung derartiger gewerblicher Anlagen.

Unter den Verunreinigungen der Luft verdienen vom hygienischen Standpunkte aus die staubförmigen besondere Beachtung. Denn abgesehen von den mechanischen Schädigungen, die sie bei ihrer Einatmung den Atmungsorganen zufügen können und die in Katarrhen sich äufsern, bergen sie in sich eine grofse Menge kleinster Lebewesen, unter denen spezifische Krankheitserreger, wie z. B. Tuberkelbazillen, Diphtheriebazillen, nicht zu

den Seltenheiten gehören. Ein Aufenthalt in einer so verunreinigten Luft mufs den Menschen der Gefahr aussetzen, dafs er Krankheitskeime in sich aufnimmt, die, treffen sie einen empfänglichen Organismus, in diesem ihre pathogenen Wirkungen zum Ausdruck bringen können.

Ein Vorgang, bei dem eine mehr oder minder grofse Staubentwicklung stattfindet, spielt sich fast täglich ab bei der Reinigung von Wohnräumen und den in ihnen befindlichen Ausstattungsgegenständen durch Kehren, Bürsten und Ausklopfen. Ist hierbei die Staubentwicklung auch keineswegs so erheblich, wie in mancherlei Fabrikbetrieben, so kann diese Art der Reinigung gesundheitlich nicht als einwandfrei angesehen und die Gefahren, die in ihr liegen, dürfen nicht unterschätzt werden. Auch der Effekt einer solchen Reinigung ist in vielen Fällen sehr gering. Handelt es sich um geschlossene Räumlichkeiten, so findet bei dem Ausklopfen zwar ein Aufwirbeln des Staubes statt, dieser aber senkt sich mangels genügenden Luftzuges bald wieder auf die umstehenden Möbel. Es tritt also nur eine Umlagerung und keine Beseitigung der Staubteilchen ein. Geschieht die Entstaubung bei kräftiger Lüftung oder im Freien, so ist der Erfolg erheblich besser; die Belästigungen des Arbeiters und der Umgebung durch den Staub sind jedoch nicht beseitigt.

Ein Apparat, der diesen Übelständen abzuhelfen in der Lage sei, wurde anfangs dieses Jahres in Deutschland in den Handel gebracht, nachdem er bereits in England einige Zeit Anwendung gefunden hatte. Auf Veranlassung meines hochverehrten Chefs, des Herrn Geh. Medizinalrats Prof. Dr. Rubner, dem ich an dieser Stelle für das stetige Interesse an den Versuchen meinen Dank ausspreche, befafste ich mich im Laufe des vergangenen Sommers mit der Prüfung des neuen Verfahrens.

Das Prinzip der neuen Reinigungsmethode ist, durch Saugluft, wie sie durch das Vakuum erzeugt wird, die den Gegenständen anhaftenden Staubpartikelchen aufzusaugen und zu sammeln, um sie vernichten zu können; auf die Verwendung des Vakuums nimmt die Bezeichnung ›Vakuumreiniger‹ bzw. ›Vacuum Cleaner‹ Bezug.

Der Apparat (Fig. 1), der bereits von Hoettecke beschrieben wurde[1]), besteht im wesentlichen aus einer Luftpumpe, einem luftdicht verschliefsbaren, kesselartigen Behälter, dem sog. Vakuumraum, in dem sich ein Filter befindet, und einer Schlauchleitung, welche, vom Vakuum ausgehend, zu den zu reinigenden Räumen führt. Das freie Ende der letzteren wird je nach der Art der Gegenstände, die entstaubt werden sollen, mit verschieden geformten metallenen Mundstücken versehen; die antreibende Kraft wird von einem Elektro-Benzin- oder Gasmotor geliefert.

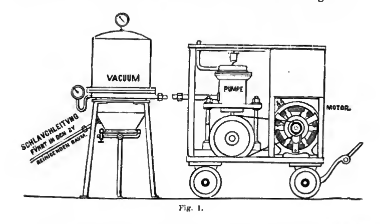


Fig. 1.

Wird die Luftpumpe, die je nach der Gröfse des Apparates ein- oder zweizylindrig ist, in Betrieb gesetzt, so entsteht in dem kesselförmigen Raum eine Luftverdünnung, die zu einer völligen Luftleere sich steigern würde, wenn nicht von aufsen ein Luftzutritt erfolgte. Dies geschieht nun mittels der Schlauchleitung. Je nach dem Grade der im Vakuum vorliegenden Luftverdünnung strömt die Luft mit mehr oder minder grofser Kraft ein, und dementsprechend macht sich an dem freien, mit Mundstück versehenen Ende die Saugwirkung bemerkbar. Bringt man das Mundstück auf einen luftdurchlässigen Gegenstand (Fig. 2), z. B. Teppich, Polstermöbel usw., so müssen, genügende Saugkraft vorausgesetzt, die in, auf und unter dem betreffenden Gewebe

1) Gesundheits-Ingenieur 1904, Nr. 31, S. 502.

liegenden beweglichen Körperchen, deren wesentlicher Bestandteil der Staub ist, angesaugt und durch die Schlauchleitung dem Vakuumraum zugeführt werden; ähnlich verhält es sich bei der Reinigung von festen, luftundurchlässigen Gegenständen, z. B. Bildern, oder Wänden Fufsböden. Die angesaugte Luft wird durch das Filter von dem ihr anhaftenden Staub befreit und



Fig. 2.

tritt gereinigt in die Zylinder der Luftpumpe. Aus letzteren wird sie nach aufsen befördert. Das Filter besteht aus einem Sack dichten und kräftigen Leinwandgewebes. Es wird über ein den oberen Teil des Vakuumraumes im Querschnitt fast völlig ausfüllendes, pilzförmiges Stativ gestülpt und mit der Öffnung nach unten mittels Bandeisen befestigt. Unterhalb der Kuppel des Stativs, im Innern des Filtersackes, ist die Einmündungsstelle

der Saugleitung. Der von dem Filter zurückgehaltene Staub sammelt sich in dem trichterförmig zulaufenden unteren Abschnitt des Vakuums und wird durch eine Öffnung, die mit einer luftdicht verschliefsbaren Klappe versehen ist, nach der jedesmaligen Entstaubung entfernt.

Bei regelrechtem Gang arbeiten die Apparate mit einem Minderdruck von ca. einer halben Atmosphäre (35—40 cm Quecksilber). Bei Verwendung der einzylindrigen Pumpe werden ca. 60,

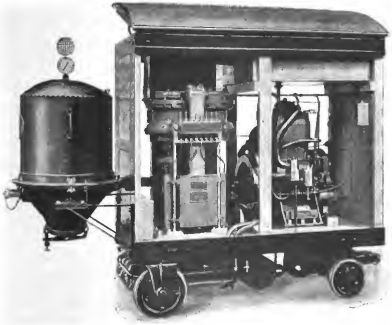


Fig. 3.

der zweizylindrigen die doppelte Anzahl Kubikmeter Luft in einer Minute durch das Filter gesaugt.

Die gesamte Einrichtung kann als transportabler Apparat oder als stationäre Anlage Verwendung finden. Ersterer (Fig. 3) ist auf einem kleinen Wagen angebracht, der jeweils an die Wohnungen, welche einer Reinigung unterzogen werden sollen, gefahren und im Hofe oder Keller aufgestellt wird. Der stationäre

Apparat, dessen Anlage sich nur für gröfsere Gebäulichkeiten, z. B. Theater, Hotels, eignet, findet in der Regel im Kellergeschofs Aufstellung; Anschlüsse nach Art der Hydranten stellen alsdann die Verbindung mit den einzelnen Stockwerken her. Durch Einschalten von Gummischläuchen kann die Saugleitung beliebig verlängert und durch Türen, Fenster und über Treppen in die betreffenden Wohnräume geführt werden. Um zu verhüten, dafs der aufsen auf ihnen lastende Luftdruck bei der im Inneren bestehenden Luftverdünnung sie zusammenprefst und verschliefst, sind die Schläuche mit Draht durchzogen.

Zur Bedienung des Apparats sind im allgemeinen zwei Mann erforderlich, von denen der eine den Motor zu beaufsichtigen, der andere das Mundstück zu dirigieren hat.

Meine Versuche erstreckten sich auf die Prüfung der Leistungsfähigkeit der Apparate. Um auch ein Urteil für eine etwaige Überlegenheit des Verfahrens gegenüber der gewöhnlichen Reinigungsmethode durch Bürsten, Klopfen usw. zu erhalten, stellte ich unter möglichst gleichen Bedingungen Parallelversuche an. Von besonderem hygienischen Interesse mufste es sein, in Erfahrung zu bringen, ob und in welchem Mafse durch den Vakuumapparat neben einer schnelleren und gründlicheren Reinigung die Staubentwicklung beseitigt oder doch vermindert würde. Zu diesem Zweck versuchte ich die Zahl der bei beiden Verfahren in die Luft gewirbelten Bakterien zu bestimmen; ich bediente mich hierzu der von Koch zur Untersuchung der Luft auf Mikroorganismen angegebenen »Absitzmethode«. Wenn auch bekanntlich diese Methode einen genauen Aufschlufs über die Zahl der in einer Luft vorhandenen Keime nicht gibt, so bot sie mir doch bei den beiderseitigen, unter möglichst gleichen, wenn nicht denselben Verhältnissen angestellten Versuchen sehr wohl verwertbare Vergleichspunkte für die Beurteilung. Die von Petri-Ficker angegebene Untersuchungsmethode konnte aus äufseren Gründen nicht angewandt werden.

Die im nachfolgenden angeführten Keimzahlen stellen den Durchschnitt der Kolonien dar, die auf je zwei Gelatineplatten zur Entwicklung kamen, nachdem sie 10 Minuten, falls nicht

eine andere Zeitdauer besonders angegeben ist, der Luft ausgesetzt gewesen waren; die Zählung der Kolonien erfolgte 3 bis 4 Tage später.

1. Versuch.

Ein Perserteppich von 15 qm Gröfse wurde mit 1000 g Staub imprägniert und über Nacht liegen gelassen. Am folgenden Tage wurde er bei geöffnetem Fenster zusammengelegt und behufs Reinigung durch Ausklopfen auf den Hof gebracht. Die Anzahl der Luftkeime war vor dem Zusammenlegen 10, sie stieg während desselben (3 Minuten) auf 173 und war eine Stunde später, während im Freien die Reinigung vorgenommen wurde, wieder auf 15 zurückgegangen. Mit dem Ausklopfen waren zwei Arbeiter 1 Stunde lang beschäftigt, bis kein Staub mehr nachgewiesen werden konnte. Die anfänglich sich entwickelnden Staubwolken waren für die Arbeiter äufserst belästigend. Alsdann wurde der Teppich in den früheren Raum zurückgebracht und einer nachträglichen Vakuumreinigung unterzogen. Luftkeime waren vorhanden: vor, während und nach dieser **50, 36** und **38**. Es wurden nach 35 Minuten **noch 43** g Staub aus dem Teppich entfernt.

2. Versuch.

In denselben Teppich wurden wiederum 1000 g Staub gerieben, alsdann die Entstaubung durch das Vakuum vorgenommen. Anzahl der Luftkeime vor, während und 30 Minuten nach dem Versuch: **12, 39, 18**. Abgesaugt wurden **999** g Staub, die Reinigung erforderte zwei Arbeitskräfte während 75 Minuten.

3. Versuch.

Imprägnieren desselben Teppichs mit 250 g Staub, Reinigen durch Abfegen bei geöffneten Fenstern. Nach 35 Minuten konnten **48** g Staub gesammelt werden, die anschliefsende Reinigung durch das Vakuum entfernte noch **139** g in 50 Minuten.

4. Versuch.

Es wurden 100 g Staub auf einen 4,62 qm grofsen Teppich gebracht. Luftkeime waren vorhanden vor, während und nach der 15 Minuten dauernden Vakuumreinigung **34, 61, 30**. Die Staubmenge betrug **92** g.

5. Versuch.

Einem Treppenläufer von 0,67 : 13,0 m Gröfse, welcher durch Ausklopfen möglichst entstaubt worden war, wurden durch den Vakuumreiniger **nachträglich 18** g Staub entzogen.

6. Versuch.

Ein Hotelzimmer mit einem Sofa, einem Lehnstuhl und einem Teppich von 16 qm Gröfse wurde von einem Arbeiter in 15 Minuten mittels Klopfens und Bürstens gereinigt. Vor und während der Reinigung waren **8** bzw. **3436** Luftkeime vorhanden, die nach 40 Minuten, bei Beginn und während der Vakuumentstaubung sich auf **41** verringerten und unmittelbar nach der letzteren **32** betrugen. Nachträglich entfernte Staubmenge

393 g. Es waren beschäftigt, wie auch bei den beiden folgenden Versuchen, **zwei Arbeiter mit je einer Saugleitung** 30 Minuten.

7. Versuch.

Ein ähnliches Hotelzimmer mit einem Sofa, zwei Lehnstühlen, einem Vorhang und Teppich von 20,7 qm wurde durch den Vakuumreiniger in **50** Minuten von **651** g Staub befreit. Auf den Gelatineplatten kamen **24**, **22** und **27** Keime zur Entwicklung.

8. Versuch.

Aus einem Teppich von 28,8 qm, der sich in einem grofsen Hotelzimmer befand, wurden **in einer Stunde 518** g Staub gesaugt. Es wurden **26** Keime vor, **33** während und **53** nach der Reinigung gezählt.

9. Versuch.

Ein Abteil II. Klasse eines Eisenbahnwagens wurde mittels des Vakuums bei Anwendung einer Saugleitung in 20 Minuten gereinigt. Die Gelatineplatten wiesen vor, während und nach der Entstaubung **6**, **144** und **7** Keime auf.

Bei dem **10. Versuch,** einer Reinigung eines gleichen Abteils durch Klopfen, betrug im Gegensatz hierzu die Anzahl der Keime, die sich innerhalb 2 Minuten während und unmittelbar nach demselben auf den Platten ablagerten, **9688** bzw. **318**.

Gelatineplatten, die während des Ausklopfens in einem Abteil I. Klasse 1 Minute der Luft ausgesetzt gewesen waren, zeigten **771** Keime.

11. Versuch.

Ein Eisenbahnwagen, der zwei Abteile I. Klasse, vier Abteile II. mit doppelten Sitzen und ein Halbabteil mit einfachen Sitzen hatte, wurde mit einer Schlauchleitung des Vakuumreinigers in 2 Stunden entstaubt, indem **971** g Staub entfernt wurden.

Nach den vorstehenden Ergebnissen haben die von mir geprüften Vakuumapparate beachtenswerte Leistungen aufzuweisen. Ihre Saugwirkung blieb nicht auf die oberflächlichen Teile der Teppiche und Polster beschränkt. Sie machte sich auch in den tiefer gelegenen Partien geltend. Der unter den Teppichen, auf dem Fufsboden liegende Schmutz wurde gleichfalls mitgerissen. Auch Körperchen schwerer als Staub, kleine Steinchen, Eisenteilchen wurden absorbiert. Motten, die sich in den Polstern festgenistet hatten, wurden vielfach abgesaugt und fanden sich unterhalb des Filters als zerquetschte Masse vor. Der Umstand, dafs aus Zimmern und Teppichen, die durch Klopfen und Kehren einer gründlichen und anscheinend vollkommenen Reinigung unterzogen waren, noch nachträglich mittels des Vakuumreinigers

erhebliche Mengen Staub entfernt werden konnten, zeigt die praktische Überlegenheit des neuen Verfahrens gegenüber dem alten. Bei sorgfältiger Vornahme der Entstaubung dürfte der Apparat wohl imstande sein, aus Teppichen, Vorhängen und



Fig. 1. Gelatineplatte während einer Zimmerreinigung durch Klopfen, Bürsten usw. 10 Minuten der Luft ausgesetzt.

Läufern den gesamten in ihnen befindlichen Staub zu beseitigen, wie dieses der 2. Versuch zeigt.

Die mit dem Vakuumreiniger behandelten Gegenstände wurden, soweit es sich nach den Versuchen beurteilen liefs, nicht mehr angegriffen als durch das Klopfen und Bürsten. Die Menge der Wollfasern, die gesammelt werden konnten, war bei beiden Verfahren ungefähr dieselbe. Infolge der Saugwirkung richten sich, wie dies besonders bei den Teppichen zu beobachten war, die niedergetretenen Fasern wieder auf, wodurch die betreffenden Gewebe ein vorteilhafteres frisches Aussehen annehmen.

Ein grofser Vorzug dieser neuen Methode besteht darin, dafs sie die Reinigung in den Wohnräumen selbst gestattet ohne grofse Belästigung der Bewohner. Es kommt bei ihr das umständliche, zeitraubende und kostspielige Entfernen und Wieder-



Fig. 5. Gelatineplatte während Zimmerreinigung durch Vakuumreiniger. 20 Minuten der Luft ausgesetzt.

anbringen der Ausstattungsstücke in Fortfall, Unbequemlichkeiten, die vielleicht manche Hausfrau und Hotelbesitzer bewegen, die Reinigung über Gebühr hinauszuschieben.

Zeit und Arbeitskräfte werden bei einer Vakuumreinigung nicht erspart. Eine gründliche Entstaubung erfordert im allgemeinen denselben, öfters jedoch einen gröfseren Aufwand an Zeit und Bedienungsmannschaften, wie meine Versuche zeigten, als das bisher übliche Verfahren.

Abgesehen von den oben erwähnten, mehr auf praktischem Gebiete liegenden Vorzügen verdient der Vakuumreiniger speziell

hygienischerseits besonderes Interesse. Die Schädlichkeiten, die in der Verunreinigung der Luft durch Staub liegen, werden durch ihn nicht bedingt; ein Aufwirbeln des Staubes und mit ihm der Bakterien findet nicht statt. (Vgl. Fig. 4 und 5.) Die geringe Vermehrung der Luftkeime in den Räumen, in denen die Entstaubung vorgenommen wurde, darf dieser nicht zur Last gelegt werden. Sie wird schon durch das Betreten eines Raumes und das Hin- und Herbewegen in demselben hervorgerufen.

Der aus den Möbeln, von deu Wänden und Decken abgesaugte Staub kann durch Verbrennen, Desinfektion oder Vergraben unschädlich gemacht werden; der durch Ausklopfen mobilisierte dagegen belästigt nicht nur die Umgebung in weitem Umfange, ein Übelstand, der sich besonders in den Grofsstädten fühlbar macht, sondern er bildet in erster Linie für die Arbeiter eine ständige, nicht zu unterschätzende Gefahr einer Infektion durch Einatmung von Krankheitskeimen.

Von gesundheitlichem Standpunkte betrachtet, bedeuten die Vakuum-Reinigerapparate einen Fortschritt auf dem Gebiete der Wohnungshygiene. Ihrer allgemeinen Einführung stehen zunächst noch die ziemlich erheblichen Kosten entgegen, die nicht nur die Beschaffung, sondern auch die leihweise Benutzung verursachen. In gröfseren Betrieben, wie z. B. bei den Eisenbahnverwaltungen, Theatern und Hotels dürften sie ihrer praktischen Verwendbarkeit wegen bald Eingaug finden, zumal da in diesen wohl ohne Ausnahme die zum Antrieb des Apparates erforderlichen Kraftmaschinen vorhanden sind.

Experimentelles über die bakterizide Wirkung des Lichtes auf mit Eosin, Erythrosin und Fluoreszein gefärbte Nährböden.

Von

E. Mettler, med. pract.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Institutes der Universität Zürich. Vorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.)

Der günstige Einfluſs des Sonnenlichtes auf das Wohlbefinden des Menschen und auf die Lebenstätigkeit tierischer und pflanzlicher Wesen ist seit langer Zeit bekannt. Diese Beobachtung hat in den letzten Jahren Laien und Ärzte zu der Verwendung des Lichts als Heilfaktor bei den verschiedenartigsten Krankheiten veranlaſst. Es wurde neben dem Sonnenlicht das elektrische Licht, neben dem weiſsen Licht die einzelnen Spektralfarben angewendet. Und so haben sich die verschiedenartigsten Lichtheilverfahren entwickelt. Unsere Kenntnisse über die biologischen Wirkungen des Lichtes wurden besonders durch Niels R. Finsen[1]) in sehr hohem Grade erweitert, indem dieser Gelehrte eine wertvolle Behandlungsmethode gegen Hautkrankheiten, speziell gegen Lupus vulgaris, und eine gleich bedeutsame Therapie gegen Pocken aufstellte. Besonders letztere Therapie ist stets ein Gegenstand scharfer Kritik gewesen, und auch heute noch

1) Niels R. Finsen: Behandlung der Pocken im roten Licht. 2. Lief., 1904.

gehen die Ansichten der verschiedenen Autoren über den Wert des Aufenthalts im roten Zimmer sehr auseinander. Ferner schlossen sich therapeutische Versuche mit rotem Licht bei Masern, Scharlach, Ekzem, Erysipel, Kuhpockenimpfung unter rotem Licht an, doch ist die Zahl der Versuche noch zu gering und die Ergebnisse noch zu wenig übereinstimmend, um ein Urteil zu gestatten. Während die ersten therapeutischen Versuche rein empyrisch waren, so hat man in neuerer Zeit auch versucht, die Wirkung des Lichts experimentell festzustellen. Neben der anregenden wurde namentlich die bakterientötende Wirkung wiederholt untersucht. Schon vor Finsens bahnbrechenden Arbeiten ist die Wirkung des Lichts eingehend experimentell geprüft worden. Wir verdanken die ersten Versuche über den Einflufs des Lichts auf Mikroben den englischen Forschern Downes und Blunt[1]), deren Resultate aufs deutlichste zeigten, dafs diffuses Tageslicht das Wachstum der Bakterien verlangsamt, direktes Sonnenlicht dasselbe vollständig hemmt, und dafs vornehmlich die stark brechenden violetten Strahlen, trotz ihrer verhältnismäfsig geringen Wärmeenergie, die wirksamsten sind. Über die Dauer der Lichteinwirkung in den verschiedenen Jahreszeiten, sowie über die Art der Lichtquelle haben wir ausführliche Berichte in der Arbeit von Dieudonné[2]). Bezüglich der Spektralfarben des Lichtes fand er, dafs rote und gelbe Strahlen (Passieren der Strahlen durch eine Lösung von Kaliumbichromat) keine Entwicklungshemmung bedingen, dagegen die blauen und violetten (die eine schwefelsaure Kupferoxydammoniaklösung passierten) bei gleichzeitiger Absorption von roten, gelben und grünen Strahlen. Dieselben übereinstimmenden Resultate ergaben ihm die Versuche bei direkter Benutzung des Spektrums eines elektrischen Bogenlichts. Um eine eventuelle Wärmewirkung auszuschalten, mufsten die Strahlen eine Schicht einer Alaunlösung passieren. Die Frage, ob die Lichtstrahlen die Bakterien selbst beeinflussen oder den Nährboden chemisch verändern durch Ent-

1) Proceeding of the Royal Society of London, 1877, XXVI, S. 488.
2) Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. 11.

wicklung eines bakteriziden Stoffes, wurde von verschiedenen Autoren mit nicht übereinstimmenden Resultaten geprüft. So glaubt Richardson[1]), dafs Wasserstoffsuperoxyd der bakterizide Stoff sei. Auch Dieudonné[2]) wies Wasserstoffsuperoxyd nach bei Belichtung unter Gegenwart von Sauerstoff. Kruse[3]) hält teils die Lichteinwirkung auf die Bakterien als solche, teils die Entwicklung eines anderen Giftstoffes für das schädliche Agens. Bie[4]) schreibt die bakterizide Wirkung einer direkten Lichteinwirkung zu; zugleich mufs aber Sauerstoff vorhanden sein, nach den Forschungen von Dieudonné. Und wenn Moment's[5]) und Kedzior's[6]) Untersuchungen zeigen, dafs Bakterien auch im Vakuum oder in einer indifferenten Luftart durch das Licht getötet werden können, so bedingt doch der Zutritt von Sauerstoff eine erhöhte bakterizide Kraft in Milch, wie auch Bies[7]) neueste Untersuchungen bestätigen. Aschkinas Caspari[8]), E. W. Wittlin[9]), ausgehend von den Resultaten, dafs die Bakterien durch die kurzwelligen Strahlen des Spektrums in ihrer Entwicklungsfähigkeit geschädigt werden, machten Versuche mit Röntgenstrahlen. Ihre Resultate waren negativ. Nachdem somit festgestellt war, dafs den blauen, violetten und ultravioletten Strahlen die bakterientötende Wirkung zuzuschreiben ist, diese Strahlen den roten, langwelligeren Strahlen gegenüber aber geringere Penetrationskraft besitzen, d. h. nicht so tief in tierisches Gewebe zu dringen vermögen, kam nun Dreyer[10]) auf die Idee, Gewebe auch künstlich in einen Zustand zu versetzen, um sie

1) Journal of the Chemical Society, 1893, LXIII, S. 1109.
2) Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, Bd. IX, 1894.
3) Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, 1895, XIX.
4) Ohm Lysets Wirkung paa Bacterier., Köbenhavn, 1903.
5) Ann. de l'Inst. Past., 1892, VI.
6) Archiv f. Hygiene, 1899, XXXVI.
7) L. C.
8) Über den Einflufs dissoz. Strahlen auf organ. Subst. Chem. Centralblatt, Bd. 7.
9) Chem. Zentralblatt, 1897, I. (Zentralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde, 2. Abt., II, 30. XI. 1896.)
10) Mitteilung über Lichtbehandlung nach Dreyer, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 8.

für die fast wirkungslosen roten, orangen, gelben und grünen Strahlen empfänglich zu machen. Er »sensibilisierte« die Gewebe mit Erythrosin. In der Photochemie versteht man unter dem Namen optische Sensibilisatoren solche Stoffe, die imstande sind, Silbersalze empfindlich zu machen für die auf sie nur in geringem Maſse einwirkenden Strahlen des Spektrums, d. h. rot, orange, gelb und grün, während die Silbersalze sonst mit besonderer Vorliebe die blauen und violetten Strahlen absorbieren. Es ist jedoch nicht jeder Farbstoff als Sensibilisator zu verwenden. Welche Eigenschaften einem Sensibilisator zukommen müssen, darüber gibt die Photochemie noch keinen völligen Aufschluſs. Als Sensibilisatoren sind bis jetzt u. a. bekannt:

1. Erythrosin (Tetrajodfluoreszein);
2. Eosin (Tetrabromfluoreszein), dessen sensibilisierende Kraft nur ein viertel so stark wie die des Erythrosins ist;
3. Chinolinrot;
4. Cyanin (Chinolinblau, für lebendes Gewebe unbrauchbar wegen seiner Giftigkeit);
5. Alizarinblausulfid;
6. Äthylrot (als unwirksam erwiesen);
7. Ortòchrom (Derivat von Äthylrot).

Diese Frage der Sensibilisation von tierischem Gewebe, um sie auch der Therapie zugänglich zu machen, hat besonders in den letzten Jahren viele Autoren zu Versuchen angeregt, und es sind schon eine Anzahl günstiger Resultate speziell der Eosin- und Erythrosin-Behandlung mit Sonnenlicht bei Lupus vulgaris von Prof. Tappeiner in München, der Neiſserschen Klinik in Breslau und Finsens Lichtinstitut in Kopenhagen veröffentlicht worden. Eine befriedigende Erklärung für die Wirkung dieser eigenartigen Farbstoffe besitzen wir aber bis heute noch nicht. Bei der groſsen Bedeutung dieser Frage sowohl für die Medizin als für die Hygiene erschien es angezeigt, diejenigen Lebewesen, welche sich schon bei der Prüfung der Lichteinwirkung als sehr geeignet erwiesen, die Bakterien, auch hier zu verwenden. Die Wirkung der Sensibilisation auf Mikroorganismen ist bis jetzt noch wenig studiert worden, und so habe ich, aufgefordert

durch Herrn Privatdozenten Dr. W. Silberschmidt, Vorstand der bakteriologischen Abteilung am Hygiene-Institut in Zürich, dem ich an dieser Stelle für seine vielseitige Anregung und das stete Interesse, mit dem er meiner Arbeit folgte, bestens danke, experimentelle Versuche angestellt über das Verhalten mehrerer pathogener Mikroorganismen gegenüber der Einwirkung verschiedener Lichtarten auf mit sensibilisierenden Farbstoffen gefärbter Nährböden. Es sei mir gestattet, vorerst eine kurze Beschreibung der angewandten Methode vorauszuschicken.

Die meisten Versuche hatten die Prüfung der entwicklungshemmenden Wirkung zum Zweck. Es wurde aber auch eine Anzahl Untersuchungen vorgenommen, um die bakterientötende Wirkung zu prüfen. Die Versuche wurden meist an Kulturen auf festen Nährböden vorgenommen. Es wurden verwendet: 10proz. Fleischwasserpeptongelatine und Fleischwasserpeptonagar mit 4proz. Glyzerinzusatz. Die Kulturen wurden meist in sogenannten Petridoppelschalen angelegt. Die Agarplatten wurden fast ausschlieſslich an der Oberfläche beschickt, die Gelatineplatten wurden zum Teil flüssig, zum Teil oberflächlich geimpft. Bouillon und Schrägagar erwiesen sich als ungeeignet, da die Resultate nicht so eindeutig waren; es wurden nur wenige Versuche damit gemacht.

Zur Färbung benutzte ich Eosin, Marke: Eosin 2A extra Höchst, Erythrosin und später auch Fluoreszein ohne bestimmte Marke aus dem Vorrat des Instituts, und zwar in Verdünnungen 1:1000, 1:5000 und 1:10000. Die Nährböden wurden so gefärbt, dafs z. B. bei der Herstellung eines 1 promill. eosinhaltigen Nährbodens 100 ccm flüssigen Agars oder Gelatine mit 11 ccm einer 1proz. Eosinlösung gefärbt, in sterile Röhrchen gegossen und nochmals sterilisiert wurden.

Folgende Bakterien wurden geprüft:

1. Choleravibrio;
2. Staphylococcus pyogenes aureus;
3. Typhusbazillus;
4. Bacterium Coli commune;
5. Bacterium phosphorescens (nur wenige Versuche).

Abends vor den Versuchen wurde von den zu prüfenden Bakterien der Stammkultur etwas Material entnommen, überimpft in Bouillon, welche ungefähr 12 Stunden im Brutschrank von 36° C aufbewahrt wurde. Die Gelatineröhrchen wurden darauf mit 3 Ösen einer Aufschwemmung der ursprünglichen Bouillonkultur in sterile Bouillon beschickt. Die Agarversuche wurden meist an Agarplatten, welche oberflächlich infiziert worden waren, vorgenommen; diese Methode lieferte die besten Resultate. Die zu prüfenden Kulturen wurden mit sterilen Wattetupfern, wie dieselben bei der Entnahme von diphtherieverdächtigem Material benutzt werden, auf Agarplatten möglichst gleichmäfsig ausgebreitet. Es sei hier besonders hervorgehoben, dafs für jede Versuchsreihe eine Kontrollreihe auf denselben Nährböden ohne Belichtung der Kulturen ausgeführt wurde. Die betreffenden Kontrollplatten wurden nach der Beschickung sofort in schwarzes Papier eingewickelt und unter denselben Bedingungen aufbewahrt wie die andern.

Einige vergleichende Versuche wurden mit Neutralrot, Karmin und Blutfarbstoff angeschlossen. Nach Ablauf der bestimmten Expositionszeit wurden die Platten ebenso in schwarzes Papier eingehüllt. Die Gelatine wurde im Brutschrank von 22° C, die Agarplatten bei 36° C aufbewahrt und einige Tage der Beobachtung bezüglich des Wachstums unterzogen, und zwar die Gelatineplatten 4—5 Tage, die Agarplatten nur 1—2 Tage, da bei den ersten Versuchen kein Wachstum mehr zu konstatieren war, wenn nicht solches schon am ersten Tage aufgetreten war. Es wurden nur sehr deutliche Unterschiede als positives Resultat notiert.

Als Lichtquellen wurde diffuses Tageslicht bzw. Sonnenlicht, Auerlicht, elektrisches Bogenlicht und Röntgenstrahlen benutzt. Die Intensität der Beleuchtung wurde gemessen bei den dem Tageslicht exponierten Kulturen mittels der Photometerskala nach Vogel[1]). Die Temperaturverhältnisse und die Dauer der Exposition werden bei den einzelnen Versuchen angegeben. Bei

1) Handbuch der Photographie, 1890.

einer ganzen Anzahl von Versuchen wurde, wie schon von früheren Autoren, eine Alaunlösung zwischen Lichtquelle und Kultur eingeschaltet, um die Einwirkung der Wärme nach Möglichkeit auszuschliefsen.

I. Versuche mit durch Rubinglas passierten Lichtstrahlen.

A. Dunkelkammer mit Gaslampe und rotem Glas.

Für diese Versuche stand mir die Dunkelkammer des hygienischen Institutes zur Verfügung. Zur Belichtung wurde ein Blechkasten konstruiert, dessen Vorder- und beide Seitenwände aus rotem Glas bestanden. Die Vorderwand selbst neigte sich nach vorn, damit eine gröfsere Aufsenfläche gleichmäfsig beleuchtet werden konnte. Das rote Glas, spektroskopisch untersucht, liefs die roten und gelben Strahlen des Spektrums durch bis an die Grenze von Grün. Agar- und Gelatineplatten sowie Gelatine-Rollröhrchen wurden in gleicher Entfernung von dieser Laterne aufgestellt. Die Wärmeeinwirkung von seiten der Laterne auf die Kulturen selbst war sehr gering. Die Versuche wurden in folgender Weise angeordnet. Die beschickten Kulturen wurden je 1, 2 bzw. 3 × 24 Stunden lang ohne Unterbrechung dem roten Lichte ausgesetzt. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Platten in schwarzes Papier eingehüllt. Eine Kontrollplatte wurde von Anfang an in schwarzes Papier eingehüllt, exponiert und bis nach Ablauf der Expositionszeit in der Dunkelkammer belassen. Als Nährböden wurden gewöhnliche, d. h. ungefärbte sowie mit Eosin und Erythrosin gefärbte je in Konzentrationen von 1 : 1000 verwendet.

Je eine Platte resp. Rollröhrchen wurde nebst dem in schwarzes Papier eingehüllten Kontroll in der Kapelle des Laboratoriums bei schwacher diffuser Beleuchtung der Beobachtung ausgestellt und am Ende des Versuches mit den übrigen verglichen. Die Resultate sind in Tabelle I zusammengestellt.

Erklärung der Zeichen:

+++ sehr üppiges Wachstum,
++ üppiges Wachstum, Kolonien nicht zählbar,
+ ziemlich viele Kolonien.
L spärliche Kolonien,
0 kein Wachstum.

Tabelle I.

Versuche im Dunkelzimmer.

(Auerbrenner und Rubinglas.)

Expositionszeit	Staphylokokkus		Cholerabazillus	
	Gelatine-rollröhrchen	Gelatine-platten	Gelatine-platten	Agar-platten
A. Ungefärbte Nährböden.				
24 Stunden	+++	+++	+++	+++
48 »	+++	+++	+++	+++
72 »	+++	+++	+++	+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)	+++	+++	+++	+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	L	L	L	L
B. Mit Eosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.				
24 Stunden	+++		+++	
48 »	+++		+++	
72 »	+++		+++	
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)	+++		+++	
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	+		+	
C. Mit Erythrosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.				
24 Stunden	+++		+++	
48 »	+++		+++	
72 »	+++		+++	
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)	+++		+++	
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	+		+	

Expositionszeit	Typhusbazillus		Kolibazillus	
	Gelatine-platten	Gelatine-rollröhrchen	Gelatine-platten	Gelatine-rollröhrchen
A. Ungefärbte Nährböden.				
24 Stunden	+++	+++	+++	+++
48 »	+++	+++	+++	+++
72 »	+++	+++	+++	+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)	+++	+++	+++	+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	+++	+++	+++	+++

Expositionszeit	Typhusbazillus		Kolibazillus	
	Gelatineplatten	Gelatinerollröhrchen	Gelatineplatten	Gelatinerollröhrchen
B. Mit Eosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.				
24 Stunden		+++		+++
48 »		+++		+++
72 »		+++		+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)		+++		+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)		++		++
C. Mit Erythrosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.				
24 Stunden		+++		+++
48 »		+++		+++
72 »		+++		+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)		+++		+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)		++		++

Expositionszeit	Bazillus Phosphoreszens	
	2% Peptonlösung	Gelatineplatten
A. Ungefärbte Nährböden.		
24 Stunden	+++	+++
48 »	+++	+++
72 »	+++	+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln	+++	+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)	++	++
B. Mit Eosin gefärbte Nährböden 1 : 1000.		
24 Stunden		+++
48 »		+++
72 »		+++
Kontroll (schwarzes Papier im Dunkeln)		+++
Kontroll in Kapelle (diffuses Licht)		++

Resümee. In Übereinstimmung mit den Befunden anderer Autoren haben auch unsere Versuche mit aller Bestimmtheit er-

geben, dafs das durch Rubinglas filtrierte rote Licht einer intensiven Auerlampe auch bei 3 Tage langer Einwirkung nicht imstande ist, die geprüften Bakterien in ihrer Entwicklung in merklicher Weise zu hemmen. Wir ersehen aus diesen Versuchen weiter, dafs Eosin und Erythrosinzusatz einen Unterschied in den Resultaten nicht ergeben hat, da das Wachstum auf den exponierten gefärbten Nährböden in gleicher Weise erfolgte wie auf den nicht gefärbten. Bei Bacillus Phosphorescens war auch keine Einbufse des Leuchtvermögens zu konstatieren; die dem diffusen Licht exponierte Kultur leuchtete nach 4 Tagen nicht mehr.

B. Kasten aus Rubinglas bei Tageslicht exponiert.

Ein aus ziemlich dunklem Rubinglas, wie es zu photographischen Zwecken benutzt wird, fabrizierter Kasten — Länge 50 cm, Breite 25 cm, Höhe 15 cm — wurde auf dem Dache des Laboratoriums dem diffusen Lichte exponiert. Das Glas zeigte spektroskopisch dieselben Verhältnisse wie dasjenige der Laterne in der Dunkelkammer. In diesem wurden Kulturen auf gefärbten und auf ungefärbten Nährböden verschieden lange Zeiten exponiert, nach verstrichener Expositionszeit in schwarzes Papier gehüllt und in den Brutschrank gestellt. Die Intensität der Belichtung wurde aufserhalb mit dem Photometer gemessen. Auch diese Versuche wurden stets von Kontrollversuchen begleitet.

Tabelle II.
Versuche im Kasten aus rotem Rubinglas.

	Staphylokokkus		Cholerabazillus	
	Agarplatten	Gelatineplatten	Agarplatten	Gelatineplatten
Datum	17. Nov.	18. Nov.	15. Nov.	18. Nov.
Temperatur	+ 4° C	+ 3° C	+ 8° C	+ 3° C
Intensität d. Beleuchtung	2 Std.: 20 4 Std.: 20 + 24 6 Std.: 20 + 24 + 17	8 Std.: 24	½ Std.: 16 1 Std.: 16 + 19 1½ Std.: 16 + 19 + 15 2 Std.: 16 + 19 + 15 + 10	8 Std.: 24
Expositionszeit	2, 4 u. 6 Std.	8 Std.	½, 1, 1½ u. 2 Std.	8 Std.
Nicht gefärbter Nährbod.	+++	+++	+++	+++
Mit Eosin gefärbt. Nährb.	+++	+++	+++	+++
Mit Erythrosin gef. Nährb.	+++	+++	+++	+++
Kontroll (schwarz. Papier)	+++	+++	+++	+++

	Typhusbazillus		Kolibazillus	
	Agarplatten	Gelatineplatten	Agarplatten	Gelatineplatten
Datum	16. Nov.	18. Nov.	19. Nov.	18. Nov.
Temperatur	+ 6° C	+ 3° C	+ 4° C	+ 3° C
Intensität d. Beleuchtung	2 Std.: 22 4 Std.: 22 + 21 6 Std.: 22 + 21 + 13	8 Std.: 24	2 Std.: 18 4 Std.: 18 + 20 6 St.: 18 + 20 + 17	8 Std.: 24
Expositionszeit	2, 4 u. 6 Std.	8 Std.	2, 4 u. 6 Std.	8 Std.
Nicht gefärbter Nährbod.	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
Mit Eosin gefärbt. Nährb.	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
Mit Erythrosin gef. Nährb.	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
Kontroll (schwarz. Papier)	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +

Resümee. Die in der Tabelle II zusammengestellten Versuche wurden ausgeführt, um zu prüfen, ob das diffuse Tageslicht bzw. ob das Sonnenlicht, welches viel intensiver ist als das Licht einer Auerlampe, imstande wäre, nachdem dasselbe ein rotes Glas passiert hatte, bakterizid zu wirken, ferner ob sich in diesem roten Licht die Kulturen auf Eosin- und Erythrosin-Nährböden anders verhalten als die auf ungefärbten Nährböden. Die Resultate sind alle negativ gewesen. Nach 1, 2, 4, 6 und sogar 8 Stunden Exposition wurde eine Entwicklungshemmung bei keinem einzigen der geprüften Mikroorganismen wahrgenommen.

II. Entwicklungshemmender Einflufs des Tageslichtes auf Kulturen mit und ohne sensibilisierende Farbstoffe.

Die Versuchsanordnung war dieselbe, wie weiter oben bei der Beschreibung der allgemeinen Methode angegeben. Die Kulturen wurden auf dem Dache des hygienischen Institutes dem diffusen und jenachdem dem Sonnenlicht exponiert. Es sei bemerkt, dafs während der Versuchszeit in Zürich ausnahmsweise viel Sonnenschein notiert werden konnte. Um die durch die Wärmestrahlen bedingte Verflüssigung der Gelatine zu vermeiden, wurden die Rollröhrchen in mit Alaunlösung gefüllten hohen Gläsern exponiert, die Gelatineplatten dagegen einfach mit einer Glasglocke bedeckt. Auch diese Versuche wurden stets mit Kontrollversuchen in schwarzem Papier ausgeführt.

Tabelle III.

Diffuses Tageslicht und Sonnenlicht.

I. Staphylococcus pyog. aur.

	Wachstum nach			
	24 Std.	48 Std	3 Tag.	4 Tag.

Nährboden: Gelatineplatten u. Rollröhrchen.

1. Versuch mit Eosinnährböden.

Datum: 17. Okt. — Expositionszeit: 6 u. 13 Std. — Temperatur: 16° C. — Aufbewahrung: 22° C im Gelatine-Brutschrank.

	24 Std.	48 Std	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungefärbte Gel. nicht exponiert . .	+++			
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Gel. 6 Std. exponiert	L	+	++	+++
4. Ungef. Gel. 13 Std. exponiert . . .	L	L	+	+
5. Mit Eosin gef. Gelatine 6 Std. exponiert	0	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 13 Std. exponiert	0	0	0	0

2. Versuch mit Eosinnährböden.

Datum: 6. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 9° C. — Intensität der Beleuchtung: 18. 18 + 20. — Aufbewahrung: 22° C im Gelatine-Brutschrank.

	24 Std.	48 Std	3 Tag.
1. Ungefärbte Gel. nicht exponiert . .	+++		
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	+++		
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	+	++	+++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	+	++	+++
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 6 Std. exponiert .	0	0	0

Nährboden: Gelatine-Rollröhrchen.

3. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 13. — Aufbewahrung 22° C im Gelatine-Brutschrank.

	24 Std.	48 Std	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungefärbte Gel. nicht exponiert . .	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	+++	+++		
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	+++	+++		
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	

Nährboden: Agarplatten.

1. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 28. Okt. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Aufbewahrnng 35° C im Brutschrank.

	Wachstnm nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungefärbter Agar nicht exponiert . .	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	+	++	++	++
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	0	0	0	0
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert.	0	0	0	0
6. Mit Eosin Agar gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	0

2. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 12. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung 36° C im Brntschrank.

1. Ungefärbter Agar nicht exponiert . .	+++		
2. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++		
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	++	++	++
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	+	++	++
5. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0
6. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0

3. Versnch mit Eosin- und mit Erythrosinnährboden.

Datum: 17. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur 4° C. — Intensität d. Beleuchtnng: 2 Std.: 20, 4 Std.: 20 + 24. — Aufbewahrung 35° C.

1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++		
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++		
3. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++		
4. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	++	++	++
5. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert.	0	0	0
7. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert.	0	0	0
8. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0
9. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0

2. Cholera.

Nährböden: Gelatine-Rollröhrchen.

1. Versuch mit Eosin.

Datum: 31. Nov. — Expositionszeit: 1 u. 4 Std. — Temperatur: 11° C. — Intensität der Beleuchtung: 1 Std.: 23, 4 Std.: 23 + 24. — Aufbewahrung: 22° C im Brutschrank.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++		
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .		+++		
3. Ungef. Gel. 1 Std. exponiert		L	+	+
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		0	1 Col.	1 Col.
5. Mit Eosin gef. Gel. 1 Std. exponiert .		0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .		0	0	0

2. Versuch mit Eosin.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 1 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität der Beleuchtung: 1 St.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C im Brutschrank.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	++	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	++	+++	+++	+++
3. Ungef. Gel. 1 Std. exponiert	0	+	++	+++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	0
5. Mit Eosin gef. Gel. 1 Std. exponiert .	0	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .	0	0	0	0

3. Versuch mit Erythrosin.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C im Brutschrank.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	++			+++
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	++			+++
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	3 Col.	7 Col.
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	0
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	0	0
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	0

Nährboden: Agarplatten.

	Wachstum nach			
	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.

1. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 7. Nov. — Expositionszeit: 1/2 u. 1 Std. — Temperatur: 9° C. — Intensität d. Beleuchtung: 1/2 Std.: 13, 1 Std.: 13 + 17. — Aufbewahrung: 35° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+		+++	
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+		+++	
3. Ungef. Agar 1/2 Std. exponiert . . .	0	0	0	
4. Ungef. Agar 1 Std. exponiert	0	0	0	
5. Mit Eosin gef. Agar 1/2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Eosin gef. Agar 1 Std. exponiert .	0	0	0	

2. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 23. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 1° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 35° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	+++	+++	+++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	+++	+++	+++	
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert.	0	0	0	
6. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert.	0	0	0	

3. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 14. Nov. — Expositionszeit: 1 u. 2 Std. — Temperatur: 6° C — Intensität der Beleuchtung: 1 Std.: 13, 2 Std.: 13 + 15. — Aufbewahrung: 36° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
2. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
3 Ungef. Agar 1 Std. exponiert	++	++		
4. Ungef. Agar 2 Std. exponiert . . .	++	++		
5. Mit Erythrosin gef. Agar 1 Std. exponiert	0	0		
6. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0		

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.

4. Versuch mit Eosin- und mit Erythrosinnährboden.

Datum: 15. Nov. — Expositionszeit: $^1/_2$, 1, 1 $^1/_2$ u. 2 Std. — Temperatur: 8° C. — Intensität der Beleuchtung: $^1/_2$ Std.: 16, 1 Std.: 16 + 19, 1 $^1/_2$ Std.: 16 + 19 + 15, 2 Std.: 16 + 19 + 15 + 10. — Aufbewahrung: 36° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++	+++		
3. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
4. Ungef. Agar $^1/_2$ Std. exponiert . . .	++	++		
5. Mit Eosin gef. Agar $^1/_2$ Std. exponiert	0	0		
6. Mit Erythrosin gef. Agar $^1/_2$ Std. exponiert	0	0		
7. Ungef. Agar 1 Std. exponiert. . . .	++	++		
8. Mit Eosin gef. Agar 1 Std. exponiert.	0	0		
9. Mit Erythrosin gef. Agar 1 Std. exponiert	0	0		
10. Ungef. Agar 1 $^1/_2$ Std. exponiert. . .	++	++		
11. Mit Eosin gef. Agar 1 $^1/_2$ Std. exponiert	0	0		
12. Mit Erythrosin gef. Agar 1 $^1/_2$ Std. expon.	0	0		
13. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	++	++		
14. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0		
15. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0		

3. Typhusbazillus.

Nährboden: Gelatine-Rollröhrchen.

1. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 31. Okt. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 11° C. — Aufbewahrung: 22° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++		
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .		+++		
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert		+	++	++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		0	+	++
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .		0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .		0	0	0

2. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 4. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 9° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 22° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++		
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .		+++		
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert		+	++	++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		+	++	++
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .		0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .		0	0	0

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.

3. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+		+++	
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	+		+++	
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	0	++	++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0	+	++	
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	

Nährboden: Agarplatten.

1. Versuch mit Eosinagarplatten.

Datum: 29. Okt. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 8° C. — Aufbewahrung: 36° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	++	+++	+++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert	+	++	+++	
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	

2. Versuch mit Erythrosinagarplatten.

Datum: 12. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 36° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	++	++	++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	+	++	++	
5. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0	0	

3. Versuch mit Eosin- und mit Erythrosinagarplatten.

Datum: 16. Nov. — Expositionszeit: 2, 4 u. 6 Std. — Temperatur: 6° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 17, 4 Std.: 17 + 21, 6 Std.: 17 + 21 + 18. — Aufbewahrung: 36° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++	+++		
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++	+++		
3. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++	+++		

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
4. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	++	++		
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert.	0	0		
6. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0	0		
7. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	+	++		
8. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert.	0	0		
9. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0	0		
10. Ungef. Agar 6 Std. exponiert. . . .	0	0		
11. Mit Eosin gef. Agar 6 Std. exponiert.	0	0		
12. Mit Erythrosin gef. Agar 6 Std. exponiert	0	0		

4. Kolibazillus.

Nährboden: Gelatinerollröhrchen.

1. Versuch mit Eosinnährboden.

Datum: 4. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 9° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 22° C.

1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	+	+	+	+
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	L	L	+	+
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .	0	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .	0	0	0	0

2. Versuch mit Eosinnährboden.

Datnm: 17. Okt. — Expositionszeit: 5 u. 14 Std. — Temperatur: 16° C. — Aufbewahrung: 22° C.

1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Gel. 5 Std. exponiert	L		++	+++
4. Ungef. Gel. 14 Std. exponiert . . .	L		+	++
5. Mit Eosin gef. Gel. 5 Std. exponiert .	0		L in d. Tiefe	L
6. Mit Eosin gef. Gel. 14 Std. exponiert.	0		0	0

	Wachstum nach			
	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.

3. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 14. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std.: — Temperatur: 6° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 23, 4 Std.: 23 + 22. — Aufbewahrung: 22° C.

1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	0	++	++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0	L	+	
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	0	0	0	
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	

4. Versuch mit Erythrosinnährboden.

Datum: 9. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 10° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20. — Aufbewahrung: 22° C.

1. Ungef. Gel. nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Gel. nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	+	++	++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	L	++	++	
5. Mit Erythrosin gef. Gel. 2 Std. exponiert	L in d. Tiefe	L	L	
6. Mit Erythrosin gef. Gel. 4 Std. exponiert	0	0	0	

Nährboden: Agarplatten.

1. Versuch mit Eosinagarplatten.

Datum: 29. Okt. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 8° C. — Aufbewahrung: 36° C.

1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert . . .	++	++	++	++
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	0	0	0	0
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert ·	0	0	0	0
6. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert .	0	0	0	0

2. Versuch mit Erythrosinagarplatten.

Datum: 14. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 6° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 23, 4 Std.: 23 + 22. — Aufbewahrung: 36° C.

1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
3. Ungef. Agar 2 Std. exponiert. . . .	+		++	
4. Ungef. Agar 4 Std. exponiert. . . .	0		0	
5. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	0		0	
6. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	0		0	

	Wachstum nach			
	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
3. Versuch mit Eosin und mit Erythrosinagarplatten.				
Datum: 19. Nov. — Expositionszeit: 2, 4 u. 6 Std. — Temperatur: 4° C. — Intensität der Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 20, 6 Std.: 18 + 20 + 17. — Aufbewahrung: 36° C.				
1. Ungef. Agar nicht exponiert	+++			
2. Mit Eosin gef. Agar nicht exponiert .	+++			
3. Mit Erythrosin gef. Agar nicht exponiert	+++			
4. Ungef. Agar 2 Std. exponiert	++			
5. Mit Eosin gef. Agar 2 Std. exponiert .	++			
6. Mit Erythrosin gef. Agar 2 Std. exponiert	++			
7. Ungef. Agar 4 Std. exponiert	++			
8. Mit Eosin gef. Agar 4 Std. exponiert .	++			
9. Mit Erythrosin gef. Agar 4 Std. exponiert	++			
10. Ungef. Agar 6 Std. exponiert	++			
11. Mit Eosin gef. Agar 6 Std. exponiert .	0			
12. Mit Erythrosin gef. Agar 6 Std. exponiert	0			

Tabelle IV.

Versuche mit stärker verdünnter Eosinlösung.

(1 : 5000 und 1 : 10000.)

Verdünnung: 1 : 5000.

	Wachstum nach			
	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
A. Staphylokokkus.				
Nährboden: Gelatinerollröhrchen.				
Datum: 18. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 3° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C.				
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	++		+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	++		+++	+++
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	++		++	+++
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	L		+	++
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .	0		0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .	0		0	0

B. Cholerabazillus.

Datum: 18. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 3° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22 + 18. — Aufbewahrung: 22° C.

	Wachstum nach 24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert	++		+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .	++		+++	+++
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert	L		L	+
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert	0		0	0
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .	0		0	0
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .	0		0	0

Verdünnung: 1 : 10000.

A. Staphylokokkns pyog. aur.

Nährboden: Gelatinerollröhrchen.

Datum: 19. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 4° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 22. — Aufbewahrung: 22° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .		+++	+++	
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert		++	+++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		+	++	
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .		0	0	
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .		0	0	

B. Cholera.

Datum: 19. Nov. — Expositionszeit: 2 u. 4 Std. — Temperatur: 4° C. — Intensität d. Beleuchtung: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 22. — Aufbewahrung: 22° C.

	24 Std.	48 Std.	3 Tag.	4 Tag.
1. Ungef. Gel. nicht exponiert		+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Gel. nicht exponiert .		+++	+++	
3. Ungef. Gel. 2 Std. exponiert		++	++	
4. Ungef. Gel. 4 Std. exponiert		L	L	
5. Mit Eosin gef. Gel. 2 Std. exponiert .		0	0	
6. Mit Eosin gef. Gel. 4 Std. exponiert .		0	0	

Resümee. Die zahlreichen Versuche, welche hier tabellarisch mitgeteilt worden sind, beweisen, dafs die auch an ungefärbten Nährböden zutage tretende entwicklungshemmende Wirkung des diffusen Tageslichtes und namentlich des Sonnenlichtes in viel höherem Grade zu beobachten ist auf mit Eosin und mit Erythrosin gefärbten Nährböden als auf ungefärbten. Es genügt in

diesen Fällen häufig eine zweistündige Expositionszeit zu einer vollständigen Entwicklungshemmung, währenddem die gleichzeitig infizierten exponierten ungefärbten Nährböden noch nach 4 und sogar noch nach 6 Stunden Wachstum zeigen. Dafs die Versuche nicht absolut übereinstimmende Resultate ergeben haben, liegt auf der Hand. Von den geprüften Bakterienarten ist der Choleravibrio am empfindlichsten, das Bakterium coli am widerstandsfähigsten, während Typhus und Staphylokokkus zwischen beiden liegen. Auch bei den Versuchen mit ein und derselben Bakterienart sind die Resultate nicht vollständig übereinstimmend wegen den Schwankungen in der Tagesbeleuchtung. Die hier angeführten Versuche wurden in den Monaten Oktober, November und Dezember vorgenommen, d. h. zu einer Zeit, wo die Wärmestrahlen nicht von grofsem Einflufs sind. Immerhin wurde, um die Mitwirkung der Wärme auszuschalten, eine gröfsere Anzahl von Versuchen unter doppelwandigen, mit Alaun gefüllten Glasglocken ausgeführt, wie wir weiter unten sehen werden.

Wie in der Einleitung angegeben, wurden die meisten Nährböden mit 1‰ Eosin- und Erythrosinlösung gefärbt. Auf Tabelle IV sind einige Versuche mit Eosinnährböden, welche nur 1 : 5000 resp. 1 : 10000 des Farbstoffes enthielten, angeführt worden. Die Resultate sind mit den vorhergehenden übereinstimmend und beweisen, dafs eine noch stärkere Verdünnung des sensibilisierenden Farbstoffes ungefähr dieselbe Wirkung auf Bakterien ausübt.

III. Vergleichende Versuche mit nicht sensibilisierenden roten Farbstoffen.

Tabelle V.

1. Versuch mit Blutfarbstoff.

Staphylokokkus pyog. aur.

Datum: 22. Nov. — Temperatur: + 8° C. — Intensität: 2 Std.: 20, 4 Std.: 20 + 23, 8 Std.: 20 + 23 + 17.

	Expositionszeit		
	2 Std.	4 Std.	8 Std.
1. Nicht gef. Agar	+++	+	L
2. Mit Blutfarbstoff gef. Agar .	+++	+++	+++

Cholera.

Datum: 23. Nov. — Temperatur: + 1° C. — Intensität: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18 + 12, 8 Std.: 18 + 12 + 11.

	Expositionszeit		
	2 Std.	4 Std.	8 Std.
1. Nicht gef. Agar	+++	+	+
2. Mit Blutfarbstoff gef. Agar .	+++	+++	+++

Resümee. Diese mehrmals wiederholten Versuche beweisen, dafs im Gegensatz zu den mit Erythrosin und mit Eosin erhaltenen Resultate die entwicklungshemmende Wirkung auf Bakterien auf einem mit Blutfarbstoff gefärbten Agarnährboden geringer ist als auf einem nicht gefärbten.

2. Versuch mit verschiedenen Farbstoffen.

Cholera.

Datum: 24. Nov. — Temperatur: + 1° C. — Intensität: 1 Std.: 19, 2 Std.: 19 + 22, 3 Std.: 19 + 22 + 18.

	Expositionszeit	
	1 Std.	2 u. 3 Std.
1. Ungef. Agar	+++	0
2 Mit Eosin gef. Agar. . . .	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar . .	0	0
4. Mit Karmin gef. Agar. . .	+++	0
Kontroll schwarzes Papier .		+++

Kolibazillus.

Datum: 28. Nov. — Temperatur: 0° C. — Intensität: 2 Std.: 19, 4 Std.: 19 + 18.

	Expositionszeit	
	2 Std.	4 Std.
1. Nicht gef. Agar	+++	+++
2. Mit Neutralrot gef. Agar . .	+++	+++
Kontroll schwarzes Papier .		+++

Es konnte in diesen allerdings wenigen Versuchen ein Unterschied zwischen den mit Karmin und Neutralrot gefärbten Nährböden und den ungefärbten in bezug auf schädigende Einwirkung des Tageslichtes nicht beobachtet werden.

IV. Entwicklungshemmender Einflufs des Gaslichtes (Auerlicht) des elektrischen Bogenlichtes und der Röntgenstrahlen auf Gelatine und Agarkulturen mit und ohne sensibilisierende Farbstoffe.

A. Gaslicht.

Zu diesen Versuchen benutzte ich dieselbe Laterne wie bei den Rotlichtversuchen unter Weglassung des roten Glases im Dunkelzimmer. Die Platten wurden auch hier in der gleichen Entfernung von der Lichtquelle exponiert. Es bildete sich bei den exponierten Platten viel Kondenswasser. Die Wärmeeinwirkung jedoch war nicht derart, dafs sie die Gelatine verflüssigt hätte. Es wurden sowohl Agar- wie Gelatineplatten exponiert. Die Dauer der Exposition war 24 und 48 Stunden ohne Unterbrechung.

Tabelle VI.

	Staphylokokkus	Cholera		Typhusbazillus	Kolibazillus	
	48 Std.	24 Std.	48 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.
A. Gelatineplatten.						
1. Ungef. Gel.	+++	+++		+++		
2. Mit Eosin gef. Gel.	+++	+++		+++		
3. Mit Erythrosin gef. Gelatine	+++	+++		+++		
Kontroll schw. Papier	+++	+++		+++		
B. Agarplatten.						
1. Ungef. Agar		+++	+++		+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar		++	+++		+++	+++
2. Mit Erythrosin gef. Agar		+++	+++		+++	+++
Kontroll schw. Papier		+++			+++	

B. Elektrisches Bogenlicht.

Diese Versuche wurden in der Privatwohnung von Herrn Professor Dr. O. Roth, Professor der Hygiene am Eidgenössischen Polytechnikum, und im Physikgebäude des Polytechnikums (Abteil. Prof. Dr. Weifs) ausgeführt. Es sei mir gestattet, Herrn Professor

Dr. O. Roth und Herrn Professor Dr. Weifs für ihre grofse Freundlichkeit auch an dieser Stelle bestens zu danken. Mit Bacterium coli und Staphylokokkus beschickte Platten wurden 3 und 4 Stunden lang dem elektrischen Bogenlicht exponiert. Die Platten (Gelatine und Agar) wurden teils umgekehrt, teils mit dem Deckel nach oben aufgestellt und zwar möglichst nahe der Lichtquelle.

Tabelle VII.

1. Versuchsreihe.

(In der Privatwohnnng von Herrn Prof. Dr. O. Roth.)

1. Versuch.

Staphylokokkus auf Agarplatte.

	Distanz von der Lichtquelle	Resultat
1. Ungef. Agar (am nächsten gelegen)	14 cm	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	16 »	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	20 »	0
4. Mit Flnoreszein gef. Agar	15 »	+++
Kontroll		+++

Alle diese Platten wurden umgekehrt, d. h. mit dem Boden der Petrischale nach oben exponiert.

2. Versuch.

	Distanz von der Lichtquelle	Resultat
1. Ungef. Agar	21 cm	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	28 »	++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	17 »	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	24 »	+++
Kontroll		+++

Alle Platten wurden mit dem Deckel nach oben exponiert (viel Kondenswasser am Deckel).

3. Versuch.

Staphylokokkus Gelatinerollröhrchen.

Schon nach einstündiger Expositionszeit trat mit Ausnahme des ungefärbten Gelatinerollröhrchens Verflüssigung infolge der ausstrahlenden Wärme ein. Nach verflossener Expositionszeit wurden sie wieder zum Erstarren gebracht. Die ungefärbten und die mit Fluoreszein gefärbten Gelatinerollröhrchen waren nach 2 Tagen vollständig verflüssigt, während die zwei andern mit Eosin und Erythrosin gefärbten eine noch nicht so starke Verflüssigung zeigten.

4. Versuch.

Kolibazillus auf Agarplatte.

	Distanz von der Lichtquelle	Resultat
1. Ungef. Agar	26 cm	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	20 »	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	26 »	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	(Platte verunglückt)	
Kontroll schwarzes Papier .		+++

Diese Platten wurden mit dem Deckel nach oben exponiert. Eine weitere Reihe von Koliagarversuchen in einer Entfernung von 33—38 cm von der Lichtquelle aufgestellt und zwar mit dem Deckel nach unten und mit je einem schwarzen Quadrat in der Mitte des Bodens ergaben üppiges Wachstum. Auch war ein Unterschied zwischen dem mit schwarzem Papier bedeckten und dem übrigen Teil bezüglich des Wachstums nicht bemerkbar.

Die Koligelatinerollröhrchen waren nach einer Stunde Exposition verflüssigt. Sie wurden zum Erstarren gebracht und zeigten nach 2 Tagen üppiges Wachstum.

2. Versuchsreihe.

(Im Laboratorium des Eidgenössischen Physikgebäudes.)

1. Versuch.

Amp. 13. 50 Volt. 200 Kerzen Lichtstärke.

Expositionszeit: 3 Stunden.

Distanz von der Lichtquelle 40 cm.

	Staphylokokkus	Kolibazillus
1. Ungef. Agar	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	L (am Rand)	++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	1 Koli	++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	+++	+++
Kontroll schwarzes Papier .	+++	+++

2. Versuch.

18 Amp. 70 Volt. 150 Kerzen Lichtstärke.

Expositionszeit: 4 Stunden.

Distanz von der Lichtquelle 30 cm.

1. Ungef. Agar	++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	+	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	L	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	++	+++
Kontroll schwarzes Papier .	+++	+++

Die Versuche mit Röntgenstrahlen wurden mir ermöglicht dank der Liebenswürdigkeit von Herrn Privatdozenten Dr. Zuppinger, Vorstand des Röntgenlaboratoriums am Kantonsspital in Zürich, welcher die Bestrahlung in freundlicher Weise ausführte. Als Nährböden wurden Agarplatten, sowohl gefärbte wie ungefärbte, verwendet. Die Platten wurden mit Staph. pyog. aur. und mit Bact. coli commune beschickt. Herr Dr. Zuppinger beleuchtete nun die Platten in Intervallen von je 10 Minuten 12 Minuten lang, im ganzen $^7/_4$ Stunden. Die Stromstärke betrug 4 Ampere und 47 Volt. Die Kontrollplatten im schwarzen Papier wurden im Dunkelzimmer aufbewahrt. Das Resultat der Untersuchungen war:

Üppiges Wachstum der Staphylokokken und Colibazillen, sowohl der den Röntgenstrahlen exponierten wie der Kontroll. Ein Unterschied bei den mit Fluoreszein, Eosin und Erythrosin gefärbten Nährböden gegenüber den ungefärbten war nicht nachweisbar. Ebenso war das Wachstum der den Röntgenstrahlen zunächst gelegenen Colibazillen gleich üppig wie das der an sie sich anschliefsenden Staphylokokkenplatten, so dafs ein entwicklungshemmender Einflufs der Röntgenstrahlen in der allerdings kurzen Zeit von $^7/_4$ Stunden nicht nachgewiesen werden konnte.

Resümee. Von den hier mitgeteilten Versuchen verdienen die mit elektrischem Bogenlicht vorgenommenen besondere Erwähnung. In drei Versuchsreihen konnte der entwicklungshemmende Einflufs auf Staphylokokken deutlich beobachtet werden, nach relativ kurzer 3—4stündiger Expositionszeit. Das widerstandsfähigere Bacterium coli hat in diesen Versuchen unter denselben Bedingungen nicht so deutliche Resultate ergeben; wir haben in früheren Versuchen die gröfsere Widerstandsfähigkeit dieses Mikroorganismus angeführt. Es mufs hier allerdings bemerkt werden, dafs sämtliche Platten mit Deckel aus gewöhnlichem Glas exponiert worden waren, die besonders wirksamen ultravioletten Strahlen werden von diesem Glas zurückgehalten. Es wären die Versuche möglicherweise noch günstiger ausgefallen, wenn wir, wie dies im Finsensschen Institut gemacht worden ist, Gefäfse aus Bergkristall verwendet hätten.

Eine deutliche entwicklungshemmende Wirkung des Auerlichtes und der Röntgenstrahlen festzustellen, ist bei der angegebenen Versuchsanordnung nicht gelungen. In einem Versuch mit Auerlicht war allerdings die Zahl der Cholerakolonien auf der Eosinplatte etwas geringer. Eine sichere Einwirkung konnte aber doch nicht nachgewiesen werden.

V. Versuche unter doppelwandigen Glasglocken.

Drei doppelwandige Glasglocken (48 cm hoch, 20 cm Durchmesser) wurden mit folgenden Lösungen versehen:

Die erste mit gewöhnlichem Wasser: 6000 ccm und 300 g Alaun zur Wärmeabsorption. In den folgenden Versuchen als »weifse Glocke« bezeichnet; in die zweite, etwas mehr fassend, kamen 7000 ccm einer Eosinlösung von 1 : 10000 und 350 ccm Alaun; als »Eosinglocke« bezeichnet. In die dritte gleichfalls 7000 ccm einer Erythrosinlösung von 1 : 10000 mit 350 g Alaun; als »Erythrosinglocke« bezeichnet. Die Lösung war nicht ganz beständig, sowohl bei Eosin als bei Erythrosin kam es zu einem Niederschlag am Boden und auf der Kuppel der inneren Wand der Glocke. Ferner kam es zu einer teilweisen Entfärbung und Zersetzung.

Für jede Glocke resp. das Glockeninnere wurde ein Gestell aus Draht mit vier Etagen konstruiert, auf welche Etagen die Petrischalen zu liegen kamen, und zwar war das Gestell konstruiert analog den in den bakteriologischen Instituten verwendeten Dreifüfsen, so dafs also eine Petrischale an ihrem Rande nur auf drei Drähten ruhte. Die Versuche mit diesen Glocken wurden wiederum in diffusem Sonnenlicht auf dem Dache des Laboratoriums ausgeführt, derart, dafs in jeder der Glocken ungefärbte und mit Eosin, mit Erythrosin und mit Fluoreszein gefärbte Plattenkulturen bestimmte Zeiten zugleich exponiert wurden. Auf die unterste Etage des Gestells kamen die Erythrosinplatten zu liegen, auf die zweite die Eosinplatten auf die dritte die Fluoreszein- und auf die vierte die ungefärbten Nährböden, alle mit dem Deckel nach oben, so dafs

zwischen den einzelnen Etagen und Platten noch genügend weite Distanzen waren. Die Kontrollplatten wurden, in schwarzes Papier eingehüllt, neben den Glocken exponiert.

Tabelle VIII.

Versuche unter doppelwandigen Glasglocken.

A. Versuche mit Gelatineplatten in farblosen, mit Eosin bzw. mit Erythrosin gefärbten Glocken.

1. Staphylokokkus.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Versuch. Datum: 17. Dez. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 24. Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	+++	+	+++
Kontroll (schw. Pap.) +++			
2. Versuch. Gelatinerollröhrchen: 1 : 10000. Datum: 9. Jan. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 3 Std.: 22, 6 Std.: 22 + 24. Expositionszeit: 3 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	+	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	L	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	0	0
Kontroll (schw. Pap.) +++			

2. Cholerabazillus.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Versuch. Datum: 5. Dez. — Temperatur: 0° C. — Intensität: 2 Std.: 21, 4 Std. 21 + 22. Expositionszeit: 2 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	+	+++	Vereinzelte Kolonien am Rand
2. Mit Eosin gef. Gel.	Einige Kol. a. Rand	+++	Vereinzelte Kolonien am Rand
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	Einige Kol. a. Rand	+++	Vereinzelte Kolonien am Rand
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	Einige Kol. a. Rand	+++	Vereinzelte Kolonien am Rand

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
Expositionszeit: 4 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	0	+ Viele Kol. am Rand	
2. Mit Eosin gef. Gel. . . .	0	+	
3. Mit Erythrosin gef. Gel. .	0	+	
4. Mit Fluoreszein gef. Gel. .	0	+	
2. Versuch.			
Datum: 19. Dez. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 6 Std.: 17, 12 Std.: 17+20.			
Expositionszeit: 12 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	0	0	0
2. Mit Eosin gef. Gel. . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel. .	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Gel. .	0	0	0
Kontroll +++			
3. Typhusbazillus.			
Datum: 17. Dez. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 24.			
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	0	+++	++
2. Mit Eosin gef. Gel. . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel. .	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Gel. .	0	++	+
Kontroll +++			
4. Kolibazillus.			
1. Versuch.			
Datum: 21. Dez. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 18.			
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel. . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel. .	L am Rand	0	L am Rand
4. Mit Fluoreszein gef. Gel. .	++	+++	+++
Kontroll +++			
2. Versuch.			
Datum: 10. Jan. — Temperatur: 4° C. — Intensität: 23.			
Expositionszeit: 7 Stunden.			
1. Ungef. Gel.	++	++	++
2. Mit Eosin gef. Gel. . . .	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel. .	0	0	0
Kontroll +++			

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.

3. Versuch.

Datum: 6. Dez. — Temperatur: 9° C. — Intensität: 2 Std.: 19, 4 Std.: 19 + 24, 6 Std.: 19 + 24 + 19.

Expositionszeit: 2 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Gel.	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	L	+++	++
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	L	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	+++	+++	+++

Expositionszeit: 4 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Gel.	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	a. Rand einige Kolon.	++	++
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	a. Rand einige Kolon.	++	++
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	a. Rand einige Kolon.	+++	+++

Expositionszeit: 6 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Gel.	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Gel.	0	+++	0
3. Mit Erythrosin gef. Gel.	0	+++	0
4. Mit Fluoreszein gef. Gel.	0	+++	0
Kontroll +++			

B. Versuche mit Agarplatten in farbloser, mit Eosin bzw. mit Erythrosin gefärbten Glocken.

1. Staphylokokkus.

Datum: 16. Dez. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 3 Std.: 23, 6 Std.: 23 + 24.

Expositionszeit: 3 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	einige Kol.	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	+++	+++

Expositionszeit: 6 Stunden.

	Weiſse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	+++	+++
Kontroll (schw. Pap.) +++			

2. Cholera.

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Versuch.			
Datnm: 22. Dez. — Temperatur: 4° C. — Intensität: 3 Std.: 18, 6 Std.: 18+20.			
Expositionszeit: 3 Stunden.			
1. Ungef. Agar	+	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	+++	+++
Expositionszeit: 6 Stnnden.			
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	+++	+++
Kontroll +++			
2. Versuch.			
Datum: 19. Dez. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 7 Std.: 22.			
Expositionszeit: 7 Stunden.			
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	+	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	+++	+++
Kontroll +++			
3. Versuch.			
Datum: 13. Dez. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 2 Std.: 21, 5 Std.: 21+23.			
Expositionszeit: 2 Stunden.			
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	0	0
4. Mit Flnoreszein gef. Agar	0	+++	0
Expositionszeit: 5 Stunden.			
1. Ungef. Agar	0	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	0	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	++	0
Kontroll +++			

3. Typhusbazillus.

	Weiße Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.

1. Versuch.

Datum: 1. Dez. — Temperatur: 3° C. — Intensität: 2 Std.: 19, 4 Std.: 19 + 23, 6 Std.: 19 + 23 + 17.

Expositionszeit: 2 Stunden.

	Weiße Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	0	+++	

Expositionszeit: 4 Stunden.

	Weiße Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	0	+++	

Expositionszeit: 6 Stunden.

	Weiße Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	+++	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	0	+++	
Kontroll +++			

2. Versuch.

Datum: 10. Dez. — Temperatur: 4° C. — Intensität: 3 Std.: 18, 6 Std.: 18 + 20.

Expositionszeit: 3 Stunden.

	Weiße Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	+++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	L	+++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	+++	+++	+++

Expositionszeit: 6 Stunden.

	Weiße Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	0	+++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	++	+++	+++
Kontroll +++			

4. Kolibazillus.

3. Versuch.

Datum: 14. Dez. — Temperatur: 6° C. — Intensität: 3 Std.: 20, 6 Std.: 20 + 22.

Expositionszeit: 3 Stunden.

	Weiße Glocke	Eosin Glocke	Erythrosin Gl.
1. Ungef. Agar	++	+	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	++	+++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	++	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	++	+++	+++

	Weifse Glocke	Eosin Glocke	Eryth-rosin Gl.
Expositionszeit: 6 Stunden.			
1. Ungef. Agar	++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	L	+++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	+++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	++	+++	+++
Kontroll +++			

2. Versuch.

Datum: 5. Dez. — Temperatur: 2° C. — Intensität: 23.

Expositionszeit: 6 Stunden.

1. Ungef. Agar	++	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar . . .	0	+++	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar .	0	+++	0
4. Mit Fluoreszein gef. Agar .	0	+++	+++
Kontroll +++			

Resümee. Die in den beiliegenden Tabellen angeführten Versuche mit den drei Glocken sollten vor allem die Frage lösen, ob das durch eine Eosin- bzw. Erythrosinglocke filtrierte Tageslicht sich stärker entwicklungshemmend erweist als das gewöhnliche weifse Licht. Ferner sollte geprüft werden, ob die mit Eosin, Erythrosin und Fluoreszein gefärbten Nährböden in den gefärbten Glocken stärker beeinflufst werden als in den ungefärbten. Es ist zu bemerken, dafs die mit Eosin und Erythrosin gefärbten Lösungen der zwei Glocken nicht sämtliche übrigen Lichtstrahlen absorbierten. So wurde z. B. in einem Fall das filtrierte Licht mit dem Vogelschen Photometer unter einer roten Glocke gemessen, und die Zahl 23 abgelesen. Die zahlreichen Versuche ergeben, dafs ein Unterschied zwischen der weifsen und den roten Glocken nur darin besteht, dafs stets ohne Ausnahme die Entwicklungshemmung in der weifsen Glocke rascher und deutlicher auftrat als in den gefärbten. Auf die nicht vollständig übereinstimmenden Resultate der Eosin- und der Erythrosinglocke wollen wir nicht näher eingehen, da beide Lösungen photometrisch nicht verglichen

worden sind. Es sei aber doch darauf hingewiesen, dafs namentlich zu Beginn der Versuche die Unterschiede keine grofsen waren. Es wurden neben den mit Eosin und Erythrosin gefärbten in diesen Versuchen auch mit Fluoreszein gefärbte Nährböden exponiert. Ein Unterschied zwischen diesem letzteren Farbstoff und den zwei andern ist deutlich vorhanden gewesen. Die Fluoreszeinplatten wurden nicht so stark beeinflufst als die mit Eosin und Erythrosin gefärbten. Immerhin war die Entwicklungshemmung auf den exponierten Fluoreszeinplatten in der Regel etwas stärker als auf den ungefärbten Nährböden. Diese Versuche liefern eine Bestätigung der mit diffusem, unfiltriertem Tageslicht und mit rotem Licht erhaltenen Resultate und beweisen, dafs die Wärme keine wichtige Rolle in den vorliegenden Fällen spielt. Die Versuche zeigen uns mit aller Deutlichkeit, dafs die ungefärbten Nährböden in der farblosen Glocke früher steril bleiben als in den gefärbten Glocken, woraus hervorgeht, dafs die mit Eosin oder Erythrosin gefärbten Lichtstrahlen nicht intensiver wirken als das diffuse Licht, dafs im Gegenteil das diffuse Tageslicht stets stärker bakterizid wirkt als das durch Eosin- oder Erythrosinlösungen filtrierte.

Es konnte ferner nachgewiesen werden, dafs, bei unserer Versuchsanordnung, die entwicklungshemmende Wirkung des Lichtes ungefähr gleich grofs ist, wenn die Wärmestrahlen durch Passieren einer Alaunlösung möglichst zurückgehalten werden, als wenn das Licht unfiltriert einwirken konnte.

VI. Versuche im reflektierten Licht.

1. Versuch.

Um die Frage noch zu prüfen, ob überhaupt die roten Strahlen, als solche, Entwicklungshemmung bedingen, stellten wir Petrischalen mit ungefärbtem und mit eosinhaltigem Nährboden in umgekehrtem, rotem Glaskasten auf, d. h. das Licht konnte direkt in den Kasten von oben eindringen, in dem ein Deckel fehlte, während die Kulturen auf dem Boden des Glaskastens aufgestellt waren. Letzterer war durch vier Holzblöcke

ungefähr 10 cm über dem Boden erhoben, so dafs das Licht auch von unten Zutritt hatte.

Folgende Tabelle veranschaulicht die Resultate:

Tabelle IX.

Im roten umgekehrten Glaskasten.

1. Cholerabazillus.

Nährboden: Agarplatten.

Datum: 30. Nov. — Temperatur: 5° C. — Intensität: 2 Std.: 23, 4 Std.: 23+20.

Expositionszeit: 2 Stunden.		Expositionszeit: 4 Stunden.	
1. Ungef. Agar	+++	1. Ungef. Agar	+++
2. Mit Eosin gef. Agar .	0	2. Mit Eosin gef. Agar .	0
Kontroll +++			

2. Staphylokokkus.

Datum: 23. Nov. — Temperatur: 1° C. — Intensität: 2 Std.: 18, 4 Std.: 18+20.

Expositionszeit: 2 Stunden.		Expositionszeit: 4 Stunden.	
1. Ungef. Agar	+++	1. Ungef. Agar	+++
2. Mit Eosin gef. Agar .	0	2. Mit Eosin gef. Agar .	0
		Kontroll +++	

3. Kolibazillus.

Datum: 28. Nov. — Temperatur: 0° C. — Intensität: 2 Std.: 22, 4 Std.: 22+18.

Expositionszeit: 2 Stunden.		Expositionszeit: 4 Stunden.	
1. Ungef. Agar	+++	1. Ungef. Agar	+++
2. Mit Eosin gef. Agar .	0	2. Mit Eosin gef. Agar .	0
		Kontroll +++	

2. Versuch mit ungefärbten Agarplatten.

Die mit den entsprechenden Bakterien beschickten Agarplatten wurden dem Lichte exponiert, und zwar hatte die eine Platte als Unterlage ein weifses, die zweite ein schwarzes und die dritte ein mit einer Eosinlösung gleichmäfsiges gefärbtes Papier. Eine vierte Agarplatte kam auf eine 1 ‰ Eosinagarschicht zu liegen.

Diese Platten werden 2 und 4 Stunden dem Lichte exponiert mit folgenden Resultaten:

Tabelle X.

Nährboden: Agarplatten.

	Staphylokokkus			Cholerabazillus		
	Weifses Papier	Schwarz. Papier	EosinPap resp. Eosin Ag.	Weifses Papier	Schwarz. Papier	EosinPap. resp. Eosin Ag.
Datum	13. Jan.			12. Jan.		
Temperatur	6° C			3° C.		
Intensität	2 Std.: 20 4 Std.: 20 + 21			2 Std.: 20 4 Std.: 20 + 24		
Expositionszeit: 2 Stunden.						
Ungef. Agar	+++	+++	+++	0	0	0
Expositionszeit: 4 Stunden.						
Ungef. Agar Kontroll +++	+++	+++	+++	0	0	0

	Typhusbazillus			Kolibazillus		
	Weifses Papier	Schwarz. Papier	EosinPap. resp. Eosin Ag.	Weifses Papier	Schwarz. Papier	EosinPap. resp. Eosin Ag.
Datum	14. Jan.			16. Jan.		
Temperatur	0° C.			8° C		
Intensität	2 Std.: 20 4 Std.: 20 + 22			2 Std.: 20 4 Std.: 20 + 20		
Expositionszeit: 2 Stunden.						
Ungef. Agar	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Expositionszeit: 4 Stunden.						
Ungef. Agar Kontroll +++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Resümee. Diese Versuche zeigen mit Deutlichkeit, dafs die Wirkung des reflektierten Lichtes, sei es das Licht eines Rubinglases oder eines mit Eosin gefärbten Papieres, eine Erhöhung des entwicklungshemmenden Einflusses des Tageslichtes nicht bedingt. Die auf roter Unterlage exponierten Platten ergaben genau dieselben Resultate wie die auf schwarzem und weifsem Papier exponierten.

VII. Abtötungsversuche.

Im Brutschrank üppig gewachsene Kulturen auf ungefärbten bzw. auf mit Eosin und mit Erythrosin gefärbten Agarplatten wurden verschieden lange Zeiten dem diffusen resp. Sonnenlicht exponiert. Nach 2, 4, 6 und mehrstündiger Expositionszeit wurde jeweils einer jeden Platte mittels der Öse viel Material entnommen und auf Schrägagar und in Bouillion überimpft, nachher 24 Stunden in den Brutschrank gestellt.

NB. Es werden die wenigen mit Bouillon angestellten Versuche, da sie meist negative Resultate lieferten, hier nicht angeführt.

Tabelle XI.
Abtötungsversuche.
1. Staphylokokkus.
Nährboden: Agarplatten.

Expositionszeit	Intensität	Ungef. Agar	Eosin Agar	Erythrosin Agar
1. Versuch. Datum: 13. Dezember.				
2 Stunden	21	+++	L	L
7 »	21 + 22	+++	0	0
10 »	21+22+19	++	0	0
19 »		L	0	0
2. Versuch. Datum: 12. Januar.				
7 Stunden	24	+++	0	0
14 »	24 + 24	0	0	0
2. Cholerabazillus. 1. Versuch. Datum: 9. Dezember.				
2 Stunden	20	+++	L	+
4 »	20 + 19	++	0	L
6 »	20+19+17	0	0	0
2. Versuch. Datum: 6. Januar.				
2 Stunden	13	+++	+++	+++
4 »	13 + 16	+++	+++	+++
6 »	13+16+23	++	0	0
9 »	24	++	0	0
16 »	23	0	0	0

3. Kolibazillus.

Expositionszeit	Intensität	Ungef. Agar	Eosin Agar	Erythrosin Agar
Datum: 12. Januar.				
7 Stunden		+++	+++	+++
14 »	Zeitweise	+++	++	++
21 »	intensives	+++	L	L
26 »	Sonnenlicht	++	0	0
33 »		++	0	0

4. Typhusbazillus.

1. Versuch.

Datum: 12. Dezember

Expositionszeit	Intensität	Ungef. Agar	Eosin Agar	Erythrosin Agar
2 Stunden	16	+++	+++	+++
7 »	16 + 20	+++	++	++
12 »	Intensive	+++	++	+
18 »	Sonne	++	L	0
24 »		+	0	0

2. Versuch.

Datum: 7. Januar.

Expositionszeit	Intensität	Ungef. Agar	Eosin Agar	Erythrosin Agar
2 Stunden	16	+++	+++	+++
6 »	16 + 23	+++	+++	+++
11 »		+++	+	+
14 »	Zeitweise	++	L	L
22 »	intensives	L	0	0
29 »	Sonnenlicht	0	0	0

Resümee. Die genügend zahlreichen Versuche, welche zu verschiedenen Zeiten mit ziemlich übereinstimmenden Resultaten ausgeführt worden sind, beweisen, dafs die Kulturen auf der Oberfläche von Eosin und von Erythrosinagarplatten viel rascher nach Exposition am Tageslicht abgetötet werden als die Kulturen auf nichtgefärbten Nährböden.

Die sensibilisierenden Farbstoffe bedingen nicht nur eine Erhöhung des entwicklungshemmenden, sondern auch eine Steigerung des bakterientötenden Einflusses des Tageslichtes.

VIII. Versuche mit Nährböden, die vor der Impfung dem Lichte ausgesetzt wurden.

Ungefärbte, mit Eosin, Erythrosin und Fluoreszein gefärbte Agarplatten wurden ohne vorhergehende Beschickung mit Bakterien dem Tageslichte verschieden lange Zeiten exponiert. Nach Ablauf der Exposition wurde ein Teil der Platten sofort geimpft und in den Brutschrank gestellt, der andere Teil in dem Arbeitstisch bis zum folgenden Tage unter Lichtabschlufs aufbewahrt und erst dann infiziert und in den Brutschrank gebracht.

Die Resultate veranschaulicht folgende Tabelle:

Tabelle XII.

Versuche mit Nährböden, die vor der Impfung dem Lichte ausgesetzt wurden.

1. Staphylokokkus.

	Wachstum nach	
	24 Std.	48 Std.
A. Impfung der Platten sofort nach der Exposition.		
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 1 Stunde.		
1. Ungef. Agar	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	+++	
3. Mit Erythrosin gef. Agar	+++	
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	+++	
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 6 Stunden.		
1. Ungef. Agar	0	L
2. Mit Eosin gef. Agar	0	0
3. Mit Erythrosin gef. Agar	0	L
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	0
B. Impfung am Tage nach der Exposition.		
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 6 Stunden.		
1. Ungef. Agar	++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	++	+++
3. Mit Erythrosin gef. Agar	++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	++	+++

2. Kolibazillus.

	Wachstum nach 24 Std.	Wachstum nach 48 Std.
A. Impfung der Platten sofort nach der Exposition.		
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 1 Stunde.		
1. Ungef. Agar	+++	
2. Mit Eosin gef. Agar	+++	
3. Mit Erythrosin gef. Agar	+++	
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	+++	
Expositionszeit der ungeimpften Platten: 6 Stunden.		
1. Ungef. Agar	+++	+++
2 Mit Eosin gef. Agar	0	+
3. Mit Erythrosin gef. Agar	+	++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	L	+
B. Impfung am Tage nach der Exposition.		
Expositionsdauer der ungeimpften Platten: 6 Stunden.		
1. Ungef. Agar	+++	+++
2. Mit Eosin gef. Agar	eine Kol.	eine Kol.
3. Mit Erythrosin gef. Agar	++	+++
4. Mit Fluoreszein gef. Agar	0	eine Kol.

Resümee. Diese Versuche bestätigen die bekannte Tatsache, dafs dem Tageslicht ausgesetzte Nährböden sich für die Züchtung der Bakterien weniger eignen. Vergleichen wir die vorliegende Tabelle mit den früheren, so ist ohne weiteres ersichtlich, dafs der Unterschied zwischen ungefärbten und sensibilisierten Platten nicht zutage tritt, wie bei Belichtung infizierter Kulturen. Diese Versuche beweisen, dafs die entwicklungshemmende Wirkung, welche weiter oben als regelmäfsiger Befund beschrieben worden ist, nicht identifiziert werden darf mit der direkten Schädigung des Nährbodens durch Lichteinwirkung. Der Einflufs der Sensibilisierung kommt hier kaum in Betracht. Schon früher wurde von Dreyer beobachtet, dafs Lösungen sensibilisierender Farbstoffe nicht schädlich wirken nach der Exposition, sondern während derselben. Unsere Resultate liefern eine Bestätigung dieser Annahme.

Nachdem die Resultate unserer Versuche mitgeteilt worden sind, sei es uns gestattet, die in der Literatur veröffentlichten Befunde früherer Autoren auf diesem Gebiete in Kürze zu resümieren, soweit dieselben für die Deutung unserer Ergebnisse von Interesse sind. Die Mediziner, welche sich mit der Sensibilisierungsfrage befaſst haben, Tappeiner, Neisser, Finsen und ihre Schüler, haben auch die ersten bakteriologischen Arbeiten auf diesem Gebiete veranlaſst.

Raab[1]) prüfte die Wirkung photodynamischer Stoffe auf Bakterien, ohne jedoch auf entscheidende Resultate zu kommen, während nach Tappeiner und Jodlbauer[2]) Bac. prodig. durch eine 0,2proz. Eosinlösung nach 5—7 Tagen, durch eine stärkere Erythrosinlösung nach 2—4 Tagen getötet wurde. Nach Jakobsohns Untersuchungen aus Marmorecks Laboratorium wird der Tuberkelbazillus durch Eosin nach 24 Stunden getötet.

Währenddem Untersuchungen mit Bakterien bis jetzt nur in geringerer Zahl mitgeteilt worden sind, sind die Versuche über die Wirkung sensibilisierender Stoffe auf Infusorien, speziell Paramäzien, ausgedehnter.

Raab[3]) resümiert seine diesbezüglich angestellten Versuche in folgende Punkte:

Die Einwirkung des Tageslichtes hat in Versuchen mit Acridin, Phosphin und Eosin einen schädlichen Einfluſs und zwar beruht nach ihm dieser Einfluſs auf Hervorrufung von Fluoreszenz. In einer späteren Arbeit schreibt Raab[4]), daſs Chinolinrot und Harmalinlösung gegenüber Paramäzien dieselbe Fluoreszeinwirkung zeigten wie Acridin und Eosin. Die Wirkung des nicht fluoreszierenden Fuchsins und der Kristallviolettlösung wird dagegen im Lichte nicht verstärkt. Raab sieht in diesen Phänomenen eine vom Licht hervorgerufene erhöhte Giftwirkung von verschiedenen fluoreszierenden Stoffen, während es sich nach Halberstädter[5]), der analoge Versuche anstellte, um eine Ver-

1) Münchener Medizinische Wochenschrift, 1900, S. 1810.
2) Münchener Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 25.
3) Zeitschrift f. Biologie, 1900, Bd. 39.
4) Zeitschrift f. Biologie, 1902, Bd. 49.
5) Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 16.

schiebung der Lichtempfindlichkeit in ein anderes Strahlgebiet handelt. Ledoux-Lebard[1]) hält den Prozefs für eine Zersetzung des Eosins durch die aktiven Strahlen und somit Entwicklung einer für Paramäzien giftigen Substanz. Ebenso schreibt auch Jakobsohn[2]) (Versucbe mit Fröschen, die mit Eosin injiziert wurden) der Giftwirkung der betreffenden Stoffe entscheidende Bedeutung zu.

Nach Tappeiner[3]) ist die Fluoreszenz das Entscheidende; Sensibilisierung und photodynamische Wirkung sind keine identischen Vorgänge; beide Wirkungen besitzen nun jene Stoffe, welche nicht blofs absorbieren, sondern auch fluoreszieren. Dreyer[4]) macht geltend, dafs die Wirkung dieser besprochenen Stoffe als eine Sensibilisierung aufgefafst werden mufs. Er hält das Phänomen für eine direkte Lichtwirkung, die durch die Gegenwart der betreffenden Stoffe ermöglicht wird, also für eine Analogie mit der Wirkung optischer Sensibilisation auf die Silberhaloide. Nach ihm ist die Fluoreszenz bei der Sensibilisation nicht das Entscheidende, denn es gibt einerseits Stoffe, welche stark fluoreszieren, aber schwach oder gar nicht sensibilisieren (Fluoreszein, Aeskulin), und anderseits gibt es Stoffe, die nicht fluoreszieren und doch sensibilisieren (Cyanin). Ferner ist die Absorption ebenfalls nicht bestimmend, denn es gibt sowohl fluoreszierende wie nicht fluoreszierende Stoffe, welche stark absorbieren und trotzdem nicht für die Strahlen, die sie absorbieren, sensibilisieren. Natürlich sind Fluoreszenz und Absorption von Bedeutung, denn würden einmal die gelben und grünen Strahlen nicht absorbiert, so würden sie auch keine tötende Wirkung ausüben können, und was die Fluoreszenz anbetrifft, so sind alle bei diesen Versuchen angewandten Farbstoffe mehr oder weniger stark fluoreszierend.

Die Sensibilisierung beruht auch kaum darauf, dafs sich während der Belichtung im Sensibilisator giftige Stoffe bilden,

1) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1902, Nr. 8.

2) Zeitschrift f. Biologie, 1901, Bd. 41.

3) Tappeiner und Jodlbauer, Deutsch. Arch. f Klin. Med., 1904, Bd. 80, S. 427.

4) Mitteilungen aus Finsens Medizinischem Lichtinstitut, 1904, Heft 7.

die auf Mikroorganismen und tierisches Gewebe schädlich einwirken, denn wird ein Sensibilisator erst 10 Minuten lang belichtet und danach zur Sensibilisierung benutzt, so wird dessen sensibilisierende Fähigkeit bedeutend herabgesetzt.

Was die chemische Konstitution dieser sensibilisierenden Stoffe anbelangt, so gehören Eosin, Erythrosin und Fluoreszein zu der Gruppe der Phthaleine[1]) und sind Säurefarbstoffe: Eosin = Tetrabromfluoreszein, Erythrosin = Tetrajodfluoreszein, Fluoreszein = Resorcinphthalcin. Das Erythrosin unterscheidet sich von Eosin durch das Fehlen der Fluoreszenz. Was die Beziehung zwischen Fluoreszenz und chemischer Konstitution anbetrifft, so bezeichnet Richard Meyer[2]) gewisse Atomgruppen als fluorophore Gruppen, welche als Ursache der Fluoreszenz organischer Verbindungen anzusehen sind. Wirkt das Licht auf diese fluoreszierenden Substanzen, so bildet sich (nach den quantitativen und qualitativen Versuchen) von Straub[3]) bei einer gegebenen Menge Eosin und Überschufs von Sauerstoff und von oxydablen Körpern dauernd aktiver Sauerstoff. Die Giftwirkung der belichteten Eosinlösung beruht nach ihm auf Autooxydation, indem zugunsten eines anwesenden oxydablen Körpers das Peroxyd reduziert wird, wobei der oxydable Körper verbrennt. In seinen weiteren Versuchen[4]) (mit einer Lösung von 100 g H_2O, 0,005 Eosin, 6,0 Jodkali mit Stärkekleister) zeigte Straub, dafs nach etwa 30 Minuten Sonneneinwirkung das möglichste Maximum der Jodabspaltung erreicht ist. Die ausgeschiedene Jodmenge erwies sich direkt proportional der Konzentration des Eosins.

Dafs aber eine wirkliche chemische Verbindung bei Belichtung sauerstoffhaltiger Eosinlösung entsteht, ergibt der von Ledoux-Lebard[5]) erbrachte Versuch. Er konnte nachweisen, dafs bei der Belichtung von Eosinlösung ein Zersetzungsprodukt entsteht, das imstande ist, auch im Dunkeln Paramäzien zu töten.

1) G. Lunge, chemisch-technische Untersuchungsmethode, Bd. 3.
2) Chemisches Zentralblatt, 1897, Bd. 2.
3) Münchener Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 25.
4) Münchener Medizinische Wochenschrift, 1904, Nr. 38.
5) C. c.

In Bestätigung früherer Arbeiten haben auch unsere Versuche ergeben, dafs das diffuse Tageslicht, bzw. Sonnenlicht, einen deutlich schädigenden Einflufs auf Bakterien ausübt. In der von uns gewählten Versuchsanordnung — es wurde stets mit grofsen Mengen Bakterien gearbeitet — sind die untersuchten pathogenen Mikroorganismen Cholera, Staphylokokkus, Typhus und Koli in Zeiten, welche zwischen zwei und sechs Stunden varierten, abgetötet worden. Nur selten war auch noch auf den sechs Stunden exponierten infizierten Platten Entwicklung von Kolonien zu beobachten. Der schädliche Einflufs des Lichtes kann beträchtlich gesteigert werden, wenn man statt gewöhnlichen Nährböden, mit sensibilisierenden Farbstoffen gefärbte verwendet. Mit Eosin und mit Erythrosin gefärbte Gelatine und nachher infizierte Gelatine und Agarplatten zeigen gegenüber den nicht gefärbten Kulturen keinen merklichen Unterschied im Wachstum der untersuchten Mikroorganismen. Wurden hingegen diese gefärbten Nährböden nach der Beschickung dem Lichte ausgesetzt, so konnte mit aller Deutlichkeit eine beträchtliche Zunahme des schädigenden Einflusses des Lichtes wahrgenommen werden. Ähnliche, wenn auch nicht so prägnante Unterschiede zwischen Eosin- und Erythrosin-Kulturen und Kulturen auf nicht gefärbten Nährböden konnte auch durch Belichtung mit elektrischem Bogenlicht nachgewiesen werden. Dafs die Farbe bei dieser Wirkung keine wesentliche Rolle spielt, beweisen die Versuche mit Karmin, mit Neutralrot und mit Blutfarbstoff. Wurden die Nährböden statt mit Eosin mit den erwähnten Substanzen gefärbt, so war eine Erhöhung der entwicklungshemmenden Wirkung des Lichtes nicht zu konstatieren. Die mit Blutfarbstoff versetzten Platten zeigten sogar eine üppigere Entwicklung als die farblosen. Eine Wirkung des reflektierten Eosinfarbstoffes war ebenfalls nicht zu beobachten.

Nicht nur die entwicklungshemmende, sondern auch die bakterientötende Eigenschaft des Tageslichtes wird erhöht, wenn der Nährboden mit den in Frage stehenden Farbstofflösungen gefärbt worden ist. Zur Hervorbringung der erwähnten erhöhten bakteriziden Wirkung sind schon geringe Mengen Farbstoff aus-

reichend (in unsern Versuchen wurde meist 1 ‰ Eosin- und Erythrosinlösung verwendet; sogar Zusätze von nur 1 : 5000 und 1 : 10000 Eosin haben dieselben Resultate ergeben). Die Versuche mit Fluoreszein haben gezeigt, dafs mit diesem Farbstoff gefärbte Nährböden der Lichtwirkung gegenüber etwas empfänglicher sind als die ungefärbten; immerhin war der Unterschied gegenüber Eosin und Erythrosin ein ziemlich grofser, währenddem zwischen Eosin und Erythrosin grofse Unterschiede in den Resultaten nicht beobachtet werden konnten.

Für unsere Frage wichtig ist ferner die in allen Versuchen gemachte Beobachtung, dafs auch infizierte sensibilisierende Nährböden im roten Licht nicht anders beeinflufst werden als ungefärbte, dafs somit eine Aktivierung der roten Lichtstrahlen durch Sensibilisatiou nicht beobachtet werden konnte. Um eine Erklärung für diese eigeuartigen Wirkungen zu erhalten, wurde eine Reihe weiterer Versuche angestellt. Das rote Licht, welches im Dunkelzimmer oder durch Filtration des Tageslichtes durch ein Rubinglas erzeugt worden war, hatte, wie dies schon angegeben worden war, keinen deutlichen Einflufs auf Bakterien.

Wurde das Licht durch eine Alaunlösung filtriert, um die Wärmestrahlen einigermafsen auszuschalten, so stellte sich heraus, dafs die Resultate nicht verändert wurden; da ferner unsere Versuche während der kalten Jahreszeit angestellt worden sind, dürfen wir wohl annehmen, dafs der Wärme keine oder jedenfalls keine wesentliche Bedeutung bei der entwicklungshemmenden Wirkung des Lichtes zukommt. Weitere Versuche mit durch Eosin und durch Erythros in filtrierten Lichtstrahlen haben den Beweis erbracht, dafs das direkte Tages- bzw. Sonnenlicht intensiver wirkt auf ungefärbte sowohl wie auf gefärbte Nährböden als das filtrierte farbige Licht.

Unsere Versuche führen uns zur Annahme, dafs die spezifische Wirkung der sensibilisierenden Farbstoffe bei intensiver Beleuchtung nur dann zutage tritt, wenn der betreffende Farbstoff sich im Nährboden selbst befindet und nicht zum Vorschein kommt, wenn der Farbstoff oberhalb oder unterhalb (Filtratiou resp. Reflexion des Lichtes) des beschickten Nährbodens

sich befindet. Ohne eine bestimmte Erklärung für diese eigenartige Wirkung geben zu wollen, können wir aber doch auf Grund unserer Versuche die weiter oben angedeuteten Ansichten der Autoren unterstützen bzw. widerlegen. Die beobachtete Wirkung der mit Eosin und Erythrosin gefärbten Nährböden läfst sich als eine Sensibilisierung erklären unter der Bedingung, dafs dieser Bezeichnung, wie dies Busck[1]) in seiner Kritik der letzten Arbeiten von Tappeiner angibt, eine ebenso ausgedehnte Bedeutung gegeben werde wie in der Photographie. Diese Sensibilisierung bedingt eine Verstärkung der Wirkung des Tages- bzw. elektrischen Bogenlichtes, welches sich am leichtesten dadurch erklären läfst, dafs strahlende Spektren, welche für gewöhnlich nicht wirksam sind, durch die betreffenden Substanzen wirksam gemacht werden. Ob daneben der Fluoreszenz, der Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds, dessen Entstehung in den Nährböden bei Lichteinwirkung nachgewiesen worden ist, der Spaltung von Halogenen, eine grofse Bedeutung zukommt, wollen wir dahingestellt sein lassen. Unsere Resultate lassen auch diese Annahme zu. Tappeiner spricht von einer photodynamischen Wirkung und zieht diese Bezeichnung vor.

Zwischen den sensibilisierten und den nicht sensibilisierten Nährböden sind in unsern Versuchen keine qualitativen, sondern nur quantitative graduelle Unterschiede beobachtet worden.

Schlufsfolgerungen.

1. Die entwicklungshemmende Wirkung des Lichtes auf Agar- und Gelatineplatten, welche mit Choleravibrio, Staphylokokkus pyogenes aureus, Bakterium typhi, Bacterium coli commune infiziert worden sind, wird bedeutend erhöht, wenn man dem Nährboden geringe Mengen sog. sensibilisierender Farbstoffe (Eosin und Erythrosin) zusetzt. Ein Zusatz von 1 ‰ Eosin oder Erythrosin, ja sogar von 1 : 5000 und 1 : 10000 Eosin

1) Mitteilungen aus Finsens Medizinischem Lichtinstitut, 1904, Heft 8.

zum Nährboden genügt für die erwähnte Wirkung. Das Fluoreszein hat sich als weniger wirksam erwiesen.

2. Die bakterientötende Wirkung des Lichtes auf Kulturen wird unter denselben Bedingungen erhöht, so dafs die Mikroorganismen auf mit Eosin und mit Erythrosin gefärbten Nährböden rascher abgetötet werden als auf ungefärbten.

3. Neben dem Sonnenlicht und dem diffusen Tageslicht konnte auch mit elektrischem Bogenlicht die entwicklungshemmende Wirkung, wenn auch in geringerem Grade nachgewiesen werden, währenddem das Gasglühlicht (gewöhnlicher Auerbrenner) auch nach mehreren Tagen Exposition eine deutliche Wirkung nicht ausübte.

4. Der schädigende Einflufs des Tageslichtes wurde nicht erhöht, wenn die Nährböden statt mit sensibilisierenden, mit andren roten Farbstoffen (Karmin, Neutralrot und Blutfarbstoff) gefärbt worden waren.

5. Das rote Licht, wenn dasselbe durch ein Rubinglas erhalten wird, zeigte keine schädigende Einwirkung auf Bakterien. Eine mehrtägige Exposition der Kulturen im Dunkeln, in dem roten Lichte einer photographischen Lampe und eine vielstündige Exposition am Tageslicht unter Rubinglas hatte eine entwicklungshemmende Wirkung auf Bakterien nicht zur Folge. Auch die auf sensibilisierten Nährböden exponierten Kulturen zeigten keinen Unterschied gegenüber den ungefärbten. Die benutzten Farbstoffe scheinen somit eine Sensibilisierung für rotes Licht nicht hervorzurufen.

6. Wurde das Tageslicht durch eine verdünnte Lösung eines sensibilisierenden Farbstoffes filtriert, so konnte eine Erhöhung des schädigenden Einflusses nicht konstatiert werden. In jedem Fall war das unveränderte Tageslicht wirksamer, sowohl gegenüber gefärbten als gegenüber ungefärbten Nährböden.

7. Ein Unterschied zwischen direktem und durch Alaunlösung filtriertem Licht konnte nicht beobachtet werden, so dafs wir annehmen dürfen, dafs die Wärme eine Hauptrolle bei diesen bakteriziden Eigenschaften nicht spielt.
8. Das reflektierte rote Licht eines Rubinglases oder einer mit Eosin gefärbten Unterlage hatte keinen deutlichen Einflufs auf die Lichtwirkung.
9. Wurden die Nährböden vor der Infektion dem Tageslichte exponiert, so war eine Verschlechterung der Entwicklung sowohl aufungefärbten als auf gefärbten Nährböden zu beobachten. Ein deutlicher Unterschied zwischen Eosin-, Erythrosin- und ungefärbten Nährböden trat nicht auf, wenn die Infektion nach der Belichtung erfolgte.
10. Die mitgeteilten Resultate lassen sich am ehesten durch die Annahme erklären, dafs die Sensibilisierung eine Steigerung der Lichtwirkung zur Folge hat, in der Weise, dafs für gewöhnlich unwirksame Strahlen wirksamer werden, bzw. dafs die Gesamtwirkung des weifsen Lichtes erhöht wird. Es ist möglich, dafs die durch Lichteinwirkung auftretende Bildung von Wasserstoffsuperoxyd und die Abspaltung bakterizid wirkender Stoffe auch eine Rolle spielt. Der Unterschied zwischen dem Einflufs des Tageslichtes auf die sensibilisierten und auf andere Nährböden war in unseren Versuchen nur ein quantitativer.

Die Agglutination bei Gasphlegmonebazillen.

Von

Dr. G. Werner,
Kreisassistenzarzt in Marburg.

(Aus der hygienischen Abteilung des Instituts für Hygiene und experim. Therapie in Marburg a/L. Vorstand: Prof. Bonhoff.)

Die nähere Bestimmung und Charakterisierung des Fränkelschen Bacillus phlegmones emphysematosae, welchen man als den häufigsten Erreger der mit Gasbildung einhergehenden und oft so schwer verlaufenden entzündlichen Prozesse am lebenden Körper sowie vieler Gasbildungen in der Leiche angesehen hatte, führte namentlich durch die eingehenden Anaerobenuntersuchungen von Grafsberger und Schattenfroh (5–7) in den letzten Jahren zu dem Resultat, dafs die durch E. Fränkel (2–4) noch in seinen letzten Publikationen versuchte Abgrenzung gegenüber anderen Anaeroben aus der Gruppe der Buttersäurebildner sich nicht aufrechterhalten lasse. Unter Anderen zeigte Kamen (9), dafs die dem unbeweglichen Buttersäurebazillus (Grafsberger und Schattenfroh) gegenüber für differentiell-charakteristisch gehaltenen Eigenschaften, wie Pathogenität, Inkonstanz der Sporenbildung u. a. auf der einen wie auf der andern Seite in wechselndem Mafse vorkommen. Eine Identifizierung des Fränkelschen Gasbazillus mit dem unbeweglichen Buttersäurebildner konnte nicht mehr umgangen werden, nachdem auch die Sonderstellung als einer »pathogenen

Varietät« desselben durch die Versuche Kamens unhaltbar gemacht worden war. Auch mit dem aus Milch gezüchteten Granulobacillus buthyricus immobilis liefsen sich von ihm Gasphlegmonen beim Meerschweinchen erzeugen.

War nun schon durch die grofse Verbreitung dieses seither als harmlos angesehenen Keims, welcher sich nach Grafsberger und Schattenfroh in 80% der Marktmilch finden soll — was wir übrigens für die hiesige Gegend nicht bestätigen konnten — das allgemeine Vorkommen von Gasphlegmoneerregern in ein ganz anderes Licht gerückt worden, so dürfte dies in noch viel höherem Mafse nach den neueren Forschungen der Wiener Schule auf diesem Gebiete der Fall sein. Die seither genauer bekannten streng anaeroben, unbeweglichen, nur ganz ausnahmsweise Sporen bildenden, Kohlehydrate vergärenden Buttersäurebildner, unter welche auch der Fränkelsche Gasphlegmonebazillus eingegliedert werden mufste, bilden hiernach nur eine Erscheinungsform der betreffenden Bakterienart, wie sie besonders auf zuckerhaltigen Nährböden zur Entwicklung kommen soll. Auf kohlehydratarmen, aber eiweifsreichen Nährböden dagegen soll dieselbe bewegliche regelmäfsig sporulierende und Eiweifsfäulnis bedingende Typen hervorbringen (Passini [11, 12]).

Durch diese Variabilität, welche übrigens auch in ähnlicher Weise von Grafsberger und Schattenfroh bei Rauschbrand und malignem Ödem beobachtet wurde, würde für die Gasphlegmonebazillen ein Übergang zu anderen, seither streng von ihnen geschiedenen Anaerobengruppen geschaffen werden, welche zur Eiweifsfäulnis in Beziehung stehen und im menschlichen Darm sowohl als auch sonst in der Natur — meist wohl in Sporenform — allgemein verbreitet sind. Es kann somit nicht auffallen, wenn auch die Gasphlegmonebazillen jetzt als regelmäfsige Bewohner des menschlichen, namentlich auch des kindlichen Darms bezeichnet werden (Passini).

Wenn also die morphologischen und kulturellen Eigenschaften der aus Fällen unzweifelhafter Gasphlegmone gewonnenen Stämme bei näherem Studium sich als immer weniger genügend erwiesen, diese aus einer grofsen Gruppe weit verbreiteter Anaeroben ab-

zugrenzen, so lag es nahe, das Agglutinationsphänomen zur Differenzierung heranzuziehen, das uns ja nach dieser Seite hin bei anderen Infektionskrankheiten so aufserordentliche Dienste geleistet hat. Auch Schattenfroh (7) bezeichnet bei der jetzt bekannten grofsen Variabilität dieser Anaeroben die Reaktionen mit spezifischem Serum als die sichersten Mittel zur Unterscheidung fraglicher Ödem- und Rauschbrandbazillenstämme! Allein es sind mir über diese Verhältnisse bei Gasphlegmonebazillen bis jetzt nur ganz wenige Veröffentlichungen bekannt geworden.

Als erster erzielte Kamen (9) bei seinen schon erwähnten Versuchen, welche ihm auch auf anderem Wege keine charakteristischen Unterschiede zwischen mehreren aus Gasphlegmonen gezüchteten und aus normaler Milch gewonnenen Stämmen ergeben hatten, ein negatives Resultat bezüglich der Agglutination. Bei der von ihm benutzten Versuchsanordnung, auf welche wir später noch zurückkommen werden, konnte er eine Agglutininbildung überhaupt nicht konstatieren.

Bachmann (1) arbeitete in erster Linie mit den den Gasphlegmonebazillen nahe stehenden Bazillen des malignen Ödems. Bei der Immunisierung von Tieren mit mehreren Stämmen erhielt er nur bei einem Teil derselben (drei von fünf) ein den gleichen Stamm in höheren, die beiden anderen in geringen Verdünnungen agglutinierendes Serum. Die anderen erzeugten überhaupt keine Agglutination. Sämtliche Sera wurden auch von ihm mit einem Stamm des Fränkelschen Gasphlegmonebazillus geprüft, ohne dafs aber eine Agglutination beobachtet werden konnte.

Positive Resultate mit der Agglutination von Gasphlegmonebazillen berichtete demgegenüber Passini (11). Bei Studien über pathologische Zustände, welche durch vermehrte Darmfäulnis verursacht zu sein schienen, sollte die Frage von ihm näher untersucht werden, ob es hierbei vielleicht im Blute zur Bildung spezifischer Agglutinine für gewisse, im Darm vorkommende und zur Eiweifsfäulnis in enger Beziehung stehende Bakterienarten kommen könne. In erster Linie handelte es sich um den Bacillus putrificus Bienstock, einen beweglicheu, leicht sporu-

lierenden, strengen Anaeroben, welcher seither von der Gruppe der Gasphlegmonebazillen oder unbeweglichen Buttersäurebildner durch Gestalt und Eigenschaften weit getrennt gehalten worden war. Infolge der oben erwähnten, von Grafsberger und Schattenfroh ausgehenden Beobachtungen aber, dafs letztere durch Züchtung auf Eiweifsnährböden in eine vollständig veränderte, in Form und Lebenserscheinungen dem Putrificus Bienstock so ähnliche Form übergeführt werde, dafs dieselbe sich in älteren Kulturen gar nicht mehr von diesem unterscheiden lasse, ergaben sich auch bei den Untersuchungen dieses Autors bezüglich der Agglutinationserscheinungen ganz eigenartige, nahe Beziehungen zwischen dem Putrificus Bienstock und den Gasphlegmonebazillen, aber nur in ihrer neu entdeckten, sporulierenden, beweglichen Form, nähere als zwischen dieser und ihrem seither bekannten, asporogenen, unbeweglichen Typus. Das Putrificusserum agglutinierte sowohl den sporulierenden, beweglichen Gasphlegmonebazillus als dessen Serum den Putrificus, das Serum der asporogenen Form aber ebensowenig den Putrificus, wie dessen Serum die asporogene Form des Gasphlegmonebazillus. Dagegen agglutinierte das Serum der asporogenen Form auch die sporulierende, nicht aber war das Umgekehrte der Fall.

Abgesehen aber von diesen überraschenden, durch die Agglutinationserscheinungen angedeuteten nahen Beziehungen zu anderen Bakteriengruppen, erzielte Passini, jedenfalls durch Immunisierung mit Gasphlegmonestämmen der seither bekannten Art, Sera, welche seine — anscheinend sämtlichen — Stämme von Gasphlegmonebazillen agglutinierten, bei den wenigen allerdings, über welche er nähere Angaben macht, nur in geringeren Verdünnungen (1 : 30—80).

Schon bevor diese Untersuchungen Passinis mir bekannt geworden waren, hatte ich auf der hiesigen hygienischen Abteilung, angeregt durch einen dort von mir untersuchten Fall von menschlicher Gasphlegmone mit Schaumuiere (vgl. [13]), zu dem hierbei gewonnenen Stamm von Gasphlegmonebazillen eine Reihe anderer gesammelt, welche morphologisch und kulturell

sich im ganzen gleichartig zeigten und dem früher von E. Fränkel u. A. umschriebenen Bild der Gasphlegmonebazillen entsprachen. Dieselben sollten durch Agglutinationsversuche auf ihre gegenseitigen Beziehungen untersucht werden, zumal ihre Herkunft eine ganz verschiedenartige war:

1. Stamm GB. Aus dem Unterhautzellgewebe in der Nähe einer Bifsverletzung beim Menschen, von welcher eine tödliche Gasphlegmone ausging.

   Stamm GBN. Aus der Schaumniere desselben Falls (vgl. [13]).

2. Stamm T. Aus einem auf Tetanus mit negativem Resultat untersuchten ausgeschnittenen Schufskanal mit Resten des Filzpfropfens aus der chirurgischen Klinik (vgl. [13]).

3. Stamm L. Aus der Schaumleber eines gesunden, unbehandelten Kaninchens, welches nach der Tötung 20 Stunden im Brütschrank gelegen hatte (vgl. [13]).

4. Stamm Gr(anulo)-B(acillus) I aus Marktmilch.

5. Stamm Gr(anulo)-B(acillus) II, desgl. Beides die von Kamen ([9]) bei seinen Untersuchungen verwandten und uns gütigst zur Verfügung gestellten Stämme.

6. Stamm Fr. Ein von Herrn E. Fränkel-Hamburg uns bereitwilligst überlassener Stamm seines Bacillus phlegmones emphysematosae.

7. Stamm M. Aus einem gashaltigen Abszefs der Impfstelle eines mit einem Milzbrandsporenseidenfaden geimpften und an Milzbrand eingegangenen Meerschweinchens.

8. Stamm MK I. Aus der Gasphlegmone eines mit gesunder, steril entnommener und verriebener Kaninchenmilz subkutan geimpften Meerschweinchens.

9. Stamm MK II, desgl. (von einem andern Meerschweinchen).

10. Stamm GPh. Aus einer gashaltigen, blutigen Flüssigkeit, welche nach komplizierter, mit Erde verunreinigter Unterschenkelfraktur durch einen Einschnitt am Oberschenkel entleert worden war. (Aus der chirurgischen Klinik.)

Die Stämme, von denen die beiden letzten erst wenige Tage vor Abschlufs der Versuche gewonnen waren und hochgradige Virulenz für Meerschweinchen besafsen, waren durch Stichkulturen in hohem Zuckeragar zum Teil seit Monaten fortgezüchtet und verhielten sich im ganzen gleich, wenn auch kleine Differenzen in der Üppigkeit des Wachstums, sowie in der Fähigkeit, Gas zu bilden, vorhanden waren. Nur Stamm 2 T. zeigte mit der Zeit ein abweichendes Verhalten, indem die Bakterienmassen des Stichkanals eine zähschleimige, fadenziehende Beschaffenheit annahmen und der Bakterienrasen bei Oberflächenkulturen dem Nährboden so fest anhaftete, dafs eine Abnahme mit der Öse und Verreibung zu Agglutinationszwecken unmöglich war. Dieser Stamm wurde deshalb später aufser Betracht gelassen.

Von den übrigen Stämmen rührten also drei von Gasphlegmonen des Menschen her (1, 6, 10), zwei aus normaler Milch (4 und 5), einer sicher (3) und zwei mit Wahrscheinlichkeit (8 und 9) aus den Bauchorganen gesunder Kaninchen, schliefslich einer von einer unkontrollierbaren Wundinfektion beim Meerschweinchen (7).

Es handelte sich für mich zunächst darum, ob sich gegenüber den negativen Resultaten Kamens überhaupt durch Immunisierung mit Gasphlegmonebazillen ein agglutinierendes Serum erzielen lasse. Ferner aber wollte ich womöglich erstens ein der Gasphlegmonegruppe gegenüber reagierendes Serum, zweitens ein solches für die aus der Milch stammenden Buttersäurebazillen zu erhalten suchen. Es wurden deshalb Kaninchen zunächst mit den Stämmen 1 (GBN) und 4 (GrB I) immunisiert, und als sich ohne Mühe hierdurch spezifisch agglutinierende Sera erreichen liefsen, die aber auf die Stämme 3 (L) und 6 (Fr) keine Wirkung äufserten, so wurde später eine Immunisierung weiterer

Tiere mit diesen Stämmen L. und Fr. angeschlossen. Mit den so erhaltenen vier Seren wurden sodann sämtliche, inzwischen auf die oben angeführte Zahl angewachsenen Stämme, sowie auch im Anschlufs daran die in der Institutssammlung befindlichen Stämme von malignem Ödem und Rauschbrand auf Agglutination wiederholt untersucht.

Es erschien nicht unwahrscheinlich, dafs der Mifserfolg Kamens, welcher zur Immunisierung lebende Kulturen subkutan appliziert hatte, durch diese Immunisierungsmethode bedingt war. Auf Veranlassung des Herrn Prof. Bonhoff, unter dessen Leitung ich auf seiner Abteilung diese Arbeiten ausführen konnte, verwandte ich deshalb zur Erreichung spezifischer Agglutinationserscheinungen genau dieselbe, hauptsächlich auf den Angaben Kolles beruhende Methode, wie sie auf der Abteilung für Agglutinationsarbeiten bei Typhus- und anderen Bakterien im Gebrauch ist, wenn dieselbe auch gerade bei anaeroben Bakterien entschieden umständlicher ist, als die von den meisten Untersuchern bei ähnlichen Arbeiten benutzten. Dieser Punkt erscheint mir bezüglich des Resultats von gröfserer Wichtigkeit, als vielfach angenommen zu werden scheint. Ich sehe mich deshalb auch veranlafst, etwas ausführlicher darauf einzugehen.

Zur Immunisierung wurden nur 20—24 Stunden alte Zuckeragar-Oberflächenkulturen verwendet, welche in Petrischalen unter der Wasserstoffglocke bei 37,5° gewachsen und unter Zuhilfenahme einer geeigneten Platinöse mit Kochsalzlösung möglichst ohne Verletzung des Nährbodens abgeschwemmt waren. Vor der direkt in den Blutkreislauf (Ohrvene) des Kanincheus erfolgenden Injektion wurden dieselben 1 Stunde auf 60° erhitzt. Diese Injektionen wurden im allgemeinen ohne besondere Reaktion von den Tieren gut vertragen, was ja auch den früheren Erfahrungen bezüglich der Impfung lebender Gasphlegmonebazillen beim Kaninchen entspricht, und alle 6—7 Tage in gesteigerter Dosis wiederholt. 8—10 Tage nach der letzten Injektion wurde sodann Blut zur Gewinnung des Serums aus der Karotis entnommen.

Zur Anstellung des Agglutinationsversuchs wurde das Serum ferner mit physiologischer Kochsalzlösung in verschiedenen Graden

verdünnt, in Quantitäten von 1 ccm in entfettete Röhrchen gefüllt, und das Bakterienmaterial sodann wieder aus etwa zwanzig Stunden alten, unter Wasserstoff gewachsenen Zuckeragar-Oberflächenkulturen in Mengen von einer Normalöse unter sorgfältigster Verreibung an der Wandung hinzugefügt und das Resultat nach zweistündigem Aufenthalt im Brütschrank zunächst makroskopisch, aber unter jedesmaliger Kontrolle durch den mikroskopischen Befund im hängenden Tropfen, festgestellt.

Zu dieser mikroskopischen Kontrolle in jedem Falle war ich nach zahlreichen vergleichenden Untersuchungen dadurch gekommen, dafs sich die fein verteilten, unbeweglichen, sehr grofsen Bakterien in ihren Aufschwemmungen etwas anders verhielten als z. B. Typhusbazillen und andere kleine, bewegliche Arten. Die sorgfältigsten Verreibungen der verwendeten Kulturen in Kochsalzlösung sahen bei genauer makroskopischer Betrachtung schon so aus, dafs man, wenn es sich um Typhusbazillen handelte, mit Bestimmtheit eine beginnende Agglutination diagnostiziert hätte. Auch senkte sich das Bakterienmaterial unter vollständiger Klärung der darüberstehenden Flüssigkeit in etwa 12—24 Stunden völlig zu Boden. Allerdings konnte man durch kräftiges Aufschütteln dann immer wieder den früheren Zustand herstellen. Verschiedene von mir versuchte Zusätze vermochten an dieser Tatsache nichts zu ändern. Nur die mikroskopische Untersuchung im hängenden Tropfen brachte mit Sicherheit den Beweis, dafs von einer Agglutination keine Rede war.

Demgegenüber trat bei entsprechender Konzentration des Serums — durchschnittlich bei Verdünnungen bis auf 1 : 100 — und positivem Ausfall der Reaktion eine nicht zu verkennende Agglutination in sehr eklatanter Weise fast augenblicklich in Erscheinung. Nach makroskopisch sehr deutlich sichtbarer Häufchenbildung setzte sich schon in wenigen Minuten das Bakterienmaterial in dicken, klumpigen Massen unter vollständiger Klärung der Flüssigkeit zu Boden, und kein Schütteln vermochte wieder eine gleichmäfsige Verteilung zu erzielen. Die — übrigens sehr deutliche Bilder von Agglutination liefernde — mikroskopische Kontrolle war in diesen Fällen eigentlich unnötig.

Bei stärkeren Verdünnungen jedoch, wenn es sich darum handelte, die Grenzwerte der Reaktion festzustellen, war eine solche nicht zu entbehren, da die makroskopische Beurteilung, entsprechend den bei den Kontrollverreibungen gemachten Beobachtungen, zu Täuschungen Anlafs gab. Die mikroskopische Untersuchung vermochte dann häufig die makroskopisch gestellte Diagnose auf Agglutination nicht zu bestätigen. Als Grenzwerte wurden auch nur die Verdünnungsgrade augenommen, bei welchen die mikroskopische Untersuchung des hängenden Tropfens, und zwar in erster Linie bei schwacher Vergröfserung, noch deutliche Agglutination erkennen liefs.

Bezüglich des Zeitpunkts für die Feststellung des Resultats — nach 2 Stunden bei Brutschranktemperatur — mufs ich bemerken, dafs ich auch nach 24 Stunden, wenn die inzwischen zu Boden gesunkeneu Bakterienmassen aufgeschüttelt waren, eine Änderung des Resultats niemals habe feststellen können.

Ausführung und Resultate der Versuche.

1. Kaninchen Nr. 309, immunisiert mit Stamm 1 G B N.

Vom 12. 7. 04 bis 15. 8. 04 in 6—7tägigen Zwischenräumen 6 Injektionen von 1—10 Kulturen von Petrischalen. Blutentnahme am 24. 8. 05.

Agglutination mit Stamm 1 G B und 1 G B N bis 1 : 1000 positiv.

2. Kaninchen Nr. 280 immunisiert mit Stamm 4 Gr B I (Kamen).

Vom 12. 7. 04 bis 8. 8. 04. 5 Injektionen von 1—8 Petrischalen-Kulturen, Blutentnahme am 15. 8. 04.

Agglutination mit Stamm 4 Gr B I und 5 Gr B II bis 1 : 10000 positiv. Mit den weiteren damals zur Verfügung stehenden Stämmen 1—3 und 6 zeigten beide Sera keine Agglutination.

3. Kaninchen, grau, immunisiert mit Stamm 3 L.

Vom 22. 11. 04 bis 6. 12. 04. 3 Injektionen von 2, 4 und 6 Schalenkulturen. Blutentnahme am 15. 12. 04.

Agglutinationswert damals nicht festgestellt.

4. Kaninchen, weifs, immunisiert mit Stamm 6 Fr (Fränkel).

Vom 22. 11. 04 bis 6. 12 04. Dreimalige Injektion von 2, 4 und 6 Schalen. Blutentnahme am 15. 12. 04.

Agglutinationswert damals nicht festgestellt.

Agglutinationswerte Ende Januar 1905.

Stämme	I	II	III	IV
	Immunsera von Stamm			
	1. GBN	4. Gr B I	3. L	6. Fr
1. GBN	1:250 = +	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –
3. L	1: 10 = –	1: 10 = –	1:200 = +	1: 10 = –
4. Gr B I	1: 10 = –	1:1000 = +	1: 10 = –	1: 10 = –
5. Gr B II	1: 10 = –	1:600 = +	1: 10 = –	1: 10 = –
6. Fr	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –	1:500 = +
7. M	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –
8. MK I	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –
9. MK II	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –
10. G Ph	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –
malign. Ödem .	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –
Rauschbrand . .	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –	1: 10 = –

— bedeutet keine Agglutination.
\+ » deutliche »

Zu dieser Tabelle ist unter Bezugnahme auf frühere Angaben noch zu bemerken, dafs Stamm 1 GB, der sich völlig identisch mit 1 GBN zeigte, weil aus demselben Falle stammend, nicht mehr weitergezüchtet worden war.

Der Rückgang des Agglutinationswerts der Sera I und II ist in Anbetracht dessen, dafs dieselben jetzt fünf Monate alt waren, nicht auffallend. Die verhältnismäfsig niedrigen Werte der Sera III und IV erklären sich durch den geringen Grad der Immunisierung sowie durch ihr Alter von ca. vier Wochen.

Aus diesen Versuchsresultaten geht zunächst hervor, dafs in jedem Falle durch die geschilderte Immunisierung spezifische Agglutinine erzeugt wurden, und zwar in nicht unbedeutenden Mengen. Zeigten doch die beiden ersten Sera noch ausgesprochene Agglutination bei Verdünnungen von 1 : 1000 bzw. 1 : 10000. Auch bei den beiden anderen, zu deren Erzeugung die Immunisierung viel weniger hoch getrieben worden war, betrugen die Werte noch nach einem Monat 1 : 220 und 1 : 500. Leider war es infolge anderer Arbeiten und der Umständlichkeit der Anaerobenzüchtung versäumt worden, den Titre sofort nach Gewinnung des Serums festzustellen!

Ferner aber ergab die Prüfung mit sämtlichen Stämmen nur in einem Falle bei Serum III die Agglutination mit einem anderen als dem zur Immunisierung verwendeten Stamm, und zwar handelte es sich dabei um einen solchen, welcher gleichzeitig von Kamen aus einer anderen Probe Marktmilch gewonnen war und sich auch im übrigeu als mit dem ersteren gleichartig erwiesen hatte. Es ist somit in diesem Falle nicht unwahrscheinlich, dafs es sich um einen Stamm nicht nur derselben Gruppe — etwa der in der Milch vorkommenden —, sondern ganz derselben Herkunft gehandelt haben könne!

Die Agglutination der homologen Stämme war, wie schon erwähnt, eine sehr ausgesprochene, während bei den anderen, auch in stärkeren Konzentrationeu, keine Spur einer Reaktion vorhanden war. Irgend welche Beziehungen etwa zwischen den aus menschlichen Gasphlegmonen herrührenden oder den zum Darmkanal des Kaninchens in Beziehung stehenden oder den aus Gasphlegmonen der Meerschweinchen gezüchteten Stämmen konnten also auf diesem Wege nicht festgestellt werden.

Da der Beweis für die Agglutinabilität der Bakterien, wenigstens bezüglich der vier zur Serumbereitung benutzten Stämme sowie des Stammes 5 Gr. B. II erbracht ist, so kann sich dies Verhalten nur erklären entweder dadurch, dafs den Gasphlegmonebazilleu, wie den Koliarten, die Eigenschaft fehlt, für ihre ganze Art typische Agglutination hervorzurufen, während eine solche für die einzelnen Stämme oder Stämme gleicher Herkunft von ihnen erzeugt werden kann. Oder aber die grofse Gruppe unsrer sog. Gasphlegmouebazillen zerfällt noch in zahlreiche Arten, von welchen keine, wenigstens in bezug auf die zur Serumerzeugung benutzten vier Stämme, mehrfach in unserer Sammlung vertreten war, mit Ausnahme vielleicht von 5 Gr. B. II. Die weitere Abgrenzung derselben müfste dann der so emsigen, aber noch weiten unbekannten Gebieten gegenüber stehenden Anaerobenforschung überlassen bleiben!

Zu ähnlichen Resultateu kommt auch Bachmann in seinen schon erwähnten Untersuchungen über die Bazillen des malignen Ödems. Nebeu manchen morphologischen und kulturellen Eigen-

schaften veranlassen ihn gerade die Resultate seiner Agglutinationsversuche zu dem Schlusse, dafs die Bezeichnung Bacillus des malignen Ödems ein Sammelbegriff sei.

Passini dagegen gelang es, durcb Immunisierung mit Gasphlegmonebazillen Sera zu erzielen, durcb welcbe auch seine anderen Stämme agglutiniert wurden. Nur über ein solches macht er aber nähere Angaben: Das durch Immunisierung eines Kanincbens mit einem aus Fäeces stammenden asporogenen Gasbazillenstamm gewonnene Serum agglutinierte den eigenen Stamm bis 1 : 120, drei andere noch in Verdünnungen 1 : 30, 1 : 60 und 1 : 80. Von diesen stammte der letztere ebenfalls aus Stuhl, über die Herkunft der beiden anderen ist nichts angegeben.

Auf die von den Wiener Forschern beschriebene eigenartige und seither unbekannte Variabilität der Gasphlegmonebazillen und die sich daraus ergebenden Konsequenzen möchte ich hier um so weniger eingehen, als es mir bei den mir zu Gebote stebenden Stämmen bis jetzt weder durch Züchtung auf erstarrtem Blutserum, noch auf koaguliertem Eiweifs gelungen ist, dieselbe zu beobachten. In den Serumkulturen, in welchen die Stämme, wie schon früber von Fränkel und den meisten Beobachtern angegeben — mit fötidem Geruch (H_2S), auch bisweilen mit Gasbildung kräftig wuchsen, zeigte sich überbaupt keine wesentliche Veränderung der charakteristischen Stäbcben, auch nicht nach mehreren Generationen auf diesem Nährboden. Bei den Kulturen auf Eiweifs dagegen sah man schon bald eigentümlicbe Formveränderungen, helle Stellen im gefärbten Protoplasma, wie sie schon früher wiederholt geschildert worden sind, auch spindelförmige Auftreibungen bis zu enormer Gröfse, wie sie Grafsberger bei Rauscbbrand beschrieben und abgebildet bat, niemals aber Eigenbeweglichkeit, Geifseln oder deutliche Sporenbildung.

Es ist wohl unmöglich, heute auf Grund des vorliegeuden geringen Materials die Ursache der anscheinenden Inkongruenz der Passinischen Resultate mit dem unseren klarzustellen. Begeben wir uns aber einmal in das Reicb der Vermutungen, so ist es nicht unwahrscheinlich, dafs die vier untersucbten



Stämme Passinis sämtlich, wie es von zweien ausdrücklich angegeben ist, dem menschlichen Darminhalt entstammen, zumal er wiederholt betont, die Gasphlegmonebazillen regelmäfsig aus Stühlen von Erwachsenen und Säuglingen gezüchtet zu haben. Dieselben können also ebenso einer gleichen Herkunft sein und einer bestimmten — vielleicht derselben — Gruppe in dem grofsen Geschlecht der sog. Gasphlegmonebazillen angehören, als die beiden von Kamen gleicbzeitig aus Milch gezüchteten Stämme, welche in meinen Versuchen allein von dem gleichen Serum agglutiniert wurden. Unter dieser Konstellation würde die Inkongruenz der Resultate nur eine scheinbare sein und dem Agglutinationsphänomen noch eine wichtige Rolle für die Abgrenzung kleinerer Gruppen in dem grofsen Reich der anscheinend gleichartigen Anaeroben zufallen. Hierzu bedürfte es jedoch allerdings noch weit ausgedehnter Untersuchungen!

Gerade im Hinblick auf solche aber möchte ich zum Schlufs unter Bezugnahme auf die Untersuchungen Bachmanns und Passinis noch auf einige Einzelheiten derselben näher eingehen, da diese Verhältnisse gerade für Anaeroben noch nicht häufig beschrieben sind:

Zur Ausführung der Immunisierung benutzte Bachmann mehrtägige — bis 18 Tage alte — Gelatine- und Agarkulturen, letztere in einer nach Zerkleinerung des Agarzylinders vorgenommenen Aufschwemmung mit Bouillon. Dieselben wurden bei Meerschweinchen und Kaninchen teils lebend, teils nach ¼ stündiger Erhitzung auf 100° intraperitoneal, intramuskulär, meist aber subkutan, nie direkt in die Blutbahn eingespritzt. Bei den Agglutinationsversuchen kommen die erwähnten Aufschwemmungen von Agarkulturen mit Bouillon oder Kochsalzlösung wieder zur Verwendung. Dieselben enthielten immer Bestandteile des festen Nährbodens und wurden wegen möglichster Abkürzung der aeroben Herstellung nicht filtriert. Für die lange Erhaltung der Beweglichkeit der Ödembazillen — was ja bei den unbeweglichen Gasphlegmonebazillen nicht in Betracht kommt — erwies sich dabei Bouillon als die geeignetere Flüssigkeit, doch wurde in ihr gegenüber der Kochsalzlösung die Bildung

zur Täuschung führender Pseudohäufchen beobachtet. Als grofser Mifsstand, welcher die Ausschaltung zahlreicher Versuchsreihen bedingte, wurde das Auftreten vollständiger oder unvollständiger Agglutination in den Kontrollen empfunden. Derselbe liefs sich am besten durch Benutzung möglichst junger Kulturen und stark verdünnter Aufschwemmungen beseitigen. Für die makroskopische Beobachtung in Fickerschen Röhrchen zeigte sich ferner Kochsalzlösung als geeigneter wie Bouillon, da in ihr eine schwache Reaktion deutlicher erkannt werden konnte.

Passini verwandte zur Immunisierung seiner Tiere ebenfalls ganze Kulturen der verschiedensten Art. Ohne nähere Angaben erwähnt er Zuckerbouillon-, Gelatine, Milch-, Eiweifs- und Blutserumkulturen. Zur Beobachtuug der Agglutinationsreaktion nimmt er mit Vorliebe älteres Bakterienmaterial und empfiehlt besonders die Faulflüssigkeit (!) aus alten Blutserumkulturen sowie alte, nicht mehr überimpfbare oder durch Erhitzung abgetötete Zuckerbouillonkulturen, während bei jungen, lebenden Bakterien die Einwirkung des Serums oft inkonstant sei!

Die Vergleichung von Versuchsresultaten bedingt nun eine gewisse Gleichheit der Methodik, und ihre weitere Verwertung hat zur Voraussetzung, dafs die letztere nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft und Erfahrung einwandfrei ist. Nach beiden Richtungen hin kann ich gegeuüber den Versuchen Passinis gewisse Bedenken nicht unterdrücken. Wenn auch diese Verhältnisse bei den anaeroben Bakterien, deren Eigenart nicht zu verkennen ist, noch nicht so genau studiert sind, so haben sich doch aus der intensiven Bearbeitung der Agglutinationsfrage in den letzten Jahren ziemlich allgemein anerkannte Grundsätze über ihre Theorie und Praxis gebildet, deren grundlose Vernachlässigung die Zuverlässigkeit eines Resultats nicht zu erhöhen geeignet ist.

So erscheint es mir geboten, so lange wir die Agglutinine als Reaktionskörper von Substanzen der Bakterienleiber auffassen, bei der Immunisierung, wenn irgend angängig, diese allein zu verwenden ohne Anhäufungen ihrer Stoffwechselprodukte, also in frisch gewachsenen Kulturen. Ferner ohne Bei-

mengungen des durch die eigene Zusammensetzung und durch die in ihm entstandenen Zersetzungs- und Stoffwechselprodukte nicht als indifferent zu betrachtende Nährbodens, also in aufgeschwemmten Oberflächenkulturen. Neben anderem könnte bei der von Passini angewandten Methode die Miteinführung der verschiedensten Eiweifskörper bei der Immunisierung zur Bildung spezifischer Eiweifspräzipitine führen, welche dann in ähnliches Eiweifs enthaltenden Bakterienaufschwemmungen bei stärkeren Konzentrationen Niederschläge und Trübungen hervorrufen und, von dem Bakteriengehalt völlig unabhängig, sehr leicht zu Täuschungen führen könnten.

Ob eine Abtötung der Bakterien durch Erhitzung, wie bei den Typhusbazillen, sich zur besseren Erzielung von Agglutininen empfehlen würde, mufs durch Versuche festgestellt werden. Zur Immunisierung von Kaninchen wäre sie bei Gasphlegmonebazillen nicht nötig, bei Meerschweinchen aber, für welche viele Stämme derselben äufserst pathogen sind, kaum zu umgehen. Jedenfalls hat die von mir angewandte Methode einer einstündigen Erhitzung auf 60° Sera höheren Agglutinationswertes erzielt, als sie Passini anzugeben hat.

Was nun das zur Anstellung des Agglutinationsversuchs geeignete Bakterienmaterial betrifft, so ist wohl auch hierfür die Forderung junger, lebender, von Beimengungen freier Bakterienmassen in feiner Verteilung allgemein anerkannt. Wie dieselbe auch bei den vorliegenden Verhältnissen erfüllt werden kann, haben meine Versuche gezeigt. Die Vorteile einer klaren Kochsalzlösung als Medium liegen ferner sowohl für die makroskopische als für die mikroskopische Beobachtung auf der Hand. Auch Bachmann erkannte dieselben gegenüber der Bouillon, in welcher andere Niederschläge (»Pseudohäufchen«) Täuschungen hervorriefen. Ebenso führten ihn seine Erfahrungen zur Verwendung junger Kulturen, wie schon oben erwähnt wurde.

Wenn Passini nun behauptet, dafs die Reaktion bei jungen, lebenden Kulturen oft inkonstant sei und von alten abgetötetem, zersetztem Material besser ausgelöst würde, so steht er mit den sonstigen Erfahrungen in Widerspruch. Auch ich habe mich

gerade bei dem vorliegenden Material hiervon nicht überzeugen können, war im Gegenteil immer überrascht gewesen über die aufserordentlich prompte und ins Auge fallende Reaktion bei Verdünnungen meiner Sera bis etwa 1 : 100. Allein auf die bestimmten Augaben Passinis hin wollte ich von einer Nachprüfung nicht absehen und war begierig, ob hierbei eventuell auch eine Reaktion bei anderen Stämmen eintreten würde. In Ermangelung alter Zuckerbouillonkulturen mufste ich zu Zuckeragarkulturen greifen, die ich nach Zerkleinerung mit Bouillon aufschwemmte. Der Erfolg war wenig ermutigend: Selbst bei stärkerem Serumkonzentrationen trat Häufchenbildung und Sedimentierung in nicht sehr deutlichem Unterschied gegen die ebenfalls nicht homogen bleibenden Kontrollen erst langsam ein, blieb aber, soweit man dies bei einem so unklaren Bilde seheu konnte, welches sich auch durch mikroskopische Untersuchung nur schlecht aufklären liefs, nur auf die eigenen Stämme beschränkt.

Auch durch Erhitzung abgetötete Zuckeragar-Oberflächenkulturen lieferten dasselbe Resultat und bestätigten die Angaben Passinis über die leichtere Agglutinabilität abgestorbener Bakterien nicht.

Es dürfte auch wohl recht zweifelhaft sein, ob man in dieser Situation nicht lieber der Inkonstanz der jungen, lebenden Stämme, als der Konstanz dieses alten, abgestorbenen, in veränderter, durch Gärung zersetzter Nährflüssigkeit befindlichen Bakterienmaterials Glauben schenken müfste!

Unter diesen Umständen erscheint mir eben die Berücksichtigung der allgemein anerkannten Grundsätze der Serodiagnostik, wenn diese sich auch in erster Linie auf die Verhältnisse der Typhusbazillen, als Prototyp der agglutinablen Bakterien beziehen, auch bei solchen Untersuchungen notwendig, nachdem sich ihre Durchführbarkeit mit dem Resultat einer glatten, durchsichtigen Versuchsanordnung bei unseren Versuchen gezeigt hat. Speziell kann bei Verwendung vou iu ihrer Zusammensetzung inkonstanten, durchaus nicht indifferenten Nährflüssigkeiten als Medium der so überaus empfindlichen Reaktion ein einwandfreies Resultat nicht erwartet werden.

Literatur.

1. Bachmann, Zentralblatt f. Bakt. Originale, Bd. 37.
2. E. Fränkel, Über Gasphlegmonen. Hamburg, 1893.
3. » Münchener med. Wochenschrift, 1899.
4. » Zeitschrift f. Hyg. u. Inf., 1902, Bd. 40.
5. » Lubarsch u. Ostertag, 8. Jahrg., 1902.
6. Grafsberger und Schattenfroh, Archiv f. Hygiene, 1900, Bd. 37.
7. » » » » » 1903, Bd. 48.
8. » » » Münch. med. Wochenschr, 1900.
9. Kamen, Zentralblatt f. Bakt. Originale, 1904, Bd. 35.
10. Paltauf, Art. Agglutination in Kolle u. Wassermanns Handbuch d. path. Mikroorganism., 1904.
11. Passini, Münchener med. Wochenschrift, 1904, S. 1283.
12. » Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., 1905, Bd. 49.
13. Werner, Archiv f. Hygiene, 1904, Bd. 50 S. 274.

Vorschlag eines neuen Apparates zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes von Baumaterialien.

Von

Ing. **R. Bianchini** und Dr. **E. Cler.**

Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin.
(Direktor: Prof. Dr. A. Pagliani.)

Die genaue Kenntnis des spezifischen Gewichts der Baumaterialien hat vom hygienischen Gesichtspunkte aus sehr oft seine interessante Seite, sei es nun für Nachforschungen in der Praxis oder wissenschaftliche Bestimmungen. Tatsächlich stehen nun unter den Erscheinungen, die den Hygieniker bezüglich der vorgenannten Materialien interessieren, die wichtigsten, d. h. die Transmission der Geräusche, die Leitungsfähigkeit für Wärme und Feuchtigkeit, das Kapillarvermögen und sogar die Leichtigkeit der Stauberzeugung, in Verbindung mit der gröfseren oder kleineren Dichtigkeit der Körper; in allen diesen Fällen erwirbt der spezifische Wert angesichts der Übereinstimmung zwischen Dichtigkeit uud spezifischem Gewicht eine weitgehende Bedeutung für die daraus entspringenden praktischen Folgen.

Es ist allgemein bekannt, dafs das spezifische Gewicht das Gewicht der Einheit des Volumens ist. Es ist also, will man es bestimmen, unbedingt erforderlich, das scheinbare Volumen des Körpers mit der gröfsten Sorgfalt abzuwerten, und diese Vornahme gerade bietet heute noch

die gröfste Schwierigkeit, während die Abschätzung des Gewichts mit den heute üblichen Präzisionswagen wenigstens für diesen Zweck hinreichend genau ist.

In der Absicht, genaue Bestimmungen zu erhalten, und in der Überzeugung, dafs die direkteste und genaueste Methode immer noch in Abzug des scheinbaren Volumens von der Volumensteigerung einer den Versuchskörper umgebenden Flüssigkeit bestehe, dies nicht zuletzt auch, weil sie nur ein einmaliges Abwiegen erheischt (vorausgesetzt immerhin, dafs die verwendete Flüssigkeit keine Fehlerquellen erzeugt infolge von Aufsaugung oder anderen chemischen Erscheinungen), haben wir einen Apparat geschaffen, den wir nachstehend näher beschreiben werden.

Beschreibung des Apparates.

Beschreibung des Apparats. Dieser Apparat besteht aus einem zylinderförmigen, gläsernen Gefäfs mit einer leichten, die ganze Höhe entlang laufenden Rinne. Seine auf Grund der Berechnung möglicher und der Methode anhaftenden Fehlerquellen bestimmte Gröfsenverhältnisse sind folgende: Innerer Durchmesser[1]) 45 mm, Höhe verschieden, je nach den auszuführenden Bestimmungen. Das Gefäfs hat starke Wände und kräftigen Boden und ist mit der dem Apparat zur Stütze dienenden Fufsplatte aufs festeste verbunden.

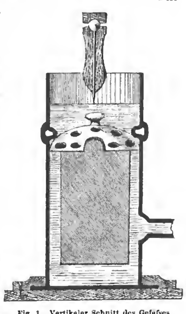
Von dem unteren Teile des Gefäfses geht eine kurze Röhre aus, die ca. 1 cm vom Boden desselben absteht und dem Ende zu verdickt ist.

Am Rand dieses Gefäfses, oder genauer, auf der Rinne ist vermittelst einer Druckschraube ein gabelartiges Gestell angebracht, das an seinem oberen Teil eine Art Klammer mit kreisförmigem Ausschnitt trägt. In diesem ruht eine gläserne Stange, die am Ende in eine Spitze ausläuft und parallel zu der Wand

1) Eine leichte Formveränderung im Schnitt des Glases führt zu keinen bedeutenden Verschiebungen in der Berechnung der Schnittfläche, so dafs wir also das Wort Durchmesser gebrauchen können, um den Durchmesser des eigentlichen kreisförmigen Teils besagten Schnittes auszudrücken.

des Gefäfses steht. Diese Anordnung hatte besonders die Erleichterung des Ersatzes einer eventuell gebrochenen Spitze im Auge.

Das freie Ende der Spitze steht 4 mm von der Wand des Glases ab und 8 mm von den an der Wand des Gefäfses angebrachten Glasspitzen. Diese Glasspitzen, ihrer drei, stehen gleichweit auseinander und können zusammen in verschiedener Entfernung vom Boden des Glases angebracht werden, treten 5 mm weit ins Innere hinein und dienen dazu, den die Materialien fassenden Teil des Apparats unter Flüssigkeit zu halten. Es ist dies ein leicht konkaves Ebenholzdeckelchen; am Rande trägt es drei Öffnungen, die den Durchgang vorgenannter Glasspitzen gestatten, überdies besitzt es Löcher, die dem Austreten der Luft und der Flüssigkeit dienen. In seinem Zentralteile nehmen wir eine weitere Öffnung wahr, die es gestattet, auf ihm ein anderes, stärker gehöhltes Deckelchen anzubringen, das einen ganz besonderen Zweck hat. Auch dieses zweite Deckelchen, ebenfalls aus Ebenholz, hat drei Durchlafsöffnungen, zahlreiche Löcher, deren eines sich im Gipfelpunkte vorfindet.


Fig. 1. Vertikaler Schnitt des Gefäfses.

Vor dem Teile der Gefäfswand, der dem Experimentierenden gegenüber zu stehen kommt, ist ein kleiner Halter angebracht, in den ein kleines, 8 × 15 cm messendes Pappschild eingefügt werden kann, das im obern Teile, der linken Ecke zu, mit einer kleinen Öffnung versehen ist.

Auf die andern, an der Fufsplatte des ganzen Apparats angebrachten Halter stützt sich eine dickwandige Röhre, deren

innerer Durchmesser ca. 3 mm beträgt, und die zweimal im rechten Winkel mit abgerundeten Ecken umgebogen ist.

Unmittelbar an ihrem Ende, das dazu bestimmt ist, mit dem Gefäfse in Verbindung zu treten, findet sich ein einfacher Glashahn, überdies zwei Nüsse zur Aufnahme der unteren Enden von zwei graduierten Büretten. Dieser ganze Teil des Apparats fällt nach dem Boden des Gefäfses hin sehr leicht ab.

Die beiden Büretten stehen mit der soeben beschriebenen horizontalen Röhre vermittelst zweier zweckentsprechend ausgedachter, spezieller Hähne in Verbindung, die für das stete Verbundenbleiben des Gefäfses mit den Büretten bürgen, welches auch immer die Stellung dieser letzteren sein mag.

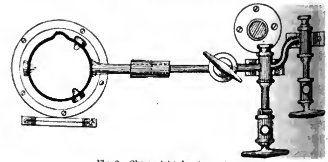


Fig. 2. Oberansicht des Apparates.

Unter dem letzten Teilungsstrich der Büretten finden sich zwei Hähnchen mit feinster Öffnung; das an der Bürette geringeren Durchmessers angebrachte kann infolge zweier Vorlegestücke nur bis zu einem bestimmten Mafse geöffnet werden.

Jeder zu den Nüssen der horizontal liegenden Röhre gehörende Hahn hat einen gewöhnlichen, längs des Durchmessers laufenden Kanal; senkrecht zu diesem Kanal und längs der Achse läuft ein zweiter, welcher den ersten Kanal mit der Bürette in Verbindung setzt. Überdies findet sich am Glashahn eine die beiden Mündungen des ersten Kanals verbindende kreisförmige Furche.

Wie schon angedeutet, bleibt durch diese Vorrichtung die Verbindung zwischen der horizontalen Röhre und den gra-

duierten Büretten stets aufrecht erhalten, welches auch immer die Inklination der letzteren sein mag.

Die Umbiegungen der horizontalen Röhre sind derart berechnet, dafs die Bewegung der Büretten freibleibt, wie dies für die Funktion des Apparates erforderlich ist.



Fig. 3. Gesamtansicht des Apparates.

Ein säulenartiges Gestell, das an die Fufsplatte befestigt ist, hat auf erforderlicher Höhe zwei mit kleinen Federn versehene Ausleger, die dazu dienen, die Büretten zu fassen und sie in vertikaler Stellung festzuhalten. Besagte Büretten sind nicht gleich stark; die eine, ca. 20 ccm fassende, hat doppelte Einteilung in

Kubikzentimeter und $^1/_{10}$ ccm, die andere, nur 2 ccm haltende, ist in $^1/_{100}$ ccm eingeteilt. In der Gröſseren bewegt sich ein gewöhnlicher Schwimmer, der infolge seines besonderen Baues die Ablesung der Höhe genauer werden läſst.

Gebrauchsanweisung für den Apparat.

Man gieſst in das Gefäſs eine bestimmte Quantität Quecksilber (eine kurze Übung mit dem Apparat wird genügen, darzutun, wieviel von der Flüssigkeit je nach dem Volumen des zu prüfenden Stücks passend eingegossen werden soll), und läſst dasselbe bis zur Füllung der Büretten zuflieſsen. Sollte sich ausnahmsweise an einem Punkte der Kanälchen ein Luftbläschen bilden, so ist es leicht, bei etwas Aufmerksamkeit dasselbe zu vermeiden.

Daraufhin werden die beiden Hähne der Büretten geschlossen und letztere selbst in eine zu den beschriebenen Auslegern vertikale Lage gebracht. In die weitere Bürette wird der zur Ablesung bestimmte Schwimmer nur dann eingeführt, wenn betreffende Bürette funktionieren soll.

Ist das Probestück dann in das Gefäſs eingeführt, so hält man es mit dem eigens dazu verfertigten Deckelchen vollständig unter Quecksilber. Dieses Deckelchen wird durch die Dichtigkeit des Quecksilbers gegen die Glasspitzen festgedrängt, an denen der Deckel, dank seiner Randausbuchtungen, beim Niedergehen durchgekommen war.

Im allgemeinen (d. h. wenn es sich nicht darum handelt, ganz kleine Stückchen zu prüfen) läſst man aus der groſsen Bürette eine gewisse Quantität ausflieſsen, und zwar so lange, bis die Spitze ca. 1 mm vom Quecksilberspiegel entfernt zu stehen kommt; dann läſst man noch weiter ausflieſsen, bis der Schwimmer mit voller Genauigkeit mit dem unmittelbar darunterstehenden Teilungsstrich der Bürette zusammenfällt.

In diesem Moment wird der Hahn der weiteren Röhre geschlossen und der der engeren geöffnet, und nun läſst man hieraus langsam ablaufen, bis die Spitze und der Spiegel des Queck-

silbers in Berührung kommen. Diese letzte Lesung kann der Genauigkeit halber wiederholt werden.

Es wird nun der Stand der beiden Büretten abgelesen und addiert, sodann der Deckel abgenommen, das Prüfungsstück herausgeholt, wonach der Experimentierende nach neuerlicher Eintauchung des Deckels in vorbesagter Weise eine neue Ablesung vornimmt und zuletzt wiederum die beiden Teilergebnisse summiert.

Der Unterschied zwischen der ersten und der zweiten Zahl gibt ohne weiteres in ccm, in $^1/_{10}$ ccm und in $^1/_{100}$ ccm das scheinbare Volumen des Stückes.

Zur Volumenbestimmung kleinster Stücke wird die Operation nur mit der kleinkalibrigen Bürette vorgenommen, die andern Ausführungseinzelheiten bleiben ganz und gar dieselben.

In diesem Falle kommt das kleinere, stärker gewölbte Ebenholzdeckelchen zur Verwendung, wodurch das Austreten der Materialstücke vermieden und an Quecksilber gespart wird.

Theorie des Apparates.

Unter den verschiedenen Aufgaben, die sich uns stellten, und die wir nachstehend vorbringen werden, befand sich vor allem diese, einen Apparat zu schaffen, der es ermöglichte, ein fortwährend gleiches Untertauchen der die Probe haltenden Vorrichtung zu haben, und dies sowohl bei der Ablesung mit untergetauchtem Stück wie auch ohne dasselbe.

Zahlreiche Erfahrungen mit verschiedenartigen Vorrichtungen, die am Glasraude angebracht wurden (und somit teilweises Eintauchen in die Flüssigkeit bedingten), brachten uns zur Überzeugung, dafs derartige Apparate trotz sorgfältigster Konstruktion und trotz Verwendung aller technischen Geschicklichkeit bei nachfolgenden Lesungen veränderte Stellung einnehmen konnten, was allerdings nur zu sehr geringen Unterschieden führte, die aber, dank der Empfindsamkeit unseres Apparats, für die Volumenveränderung eingetauchter Körper von demselben stets angezeigt wurden. Nach in verschiedenem Sinne angestellten Versuchen

nahmen wir unsere Zuflucht zu einem nach unserer Ansicht einfacheren System, zu einer Festhaltevorrichtung bei vollständigem Eintauchen in das Quecksilber, wodurch also der genannte Fehler bei beliebiger Stellung der Vorrichtung in der Flüssigkeit absolut zum Ausfall kam, eben weil das Volumen der Festhaltevorrichtung unveränderlich war.

Was dann die Spitze des Glasstäbchens anbetrifft, so ist sie, da sie mit dem Gefäfs aufs festeste verbunden, bei den verschiedenen Bestimmungen durchaus keiner Veränderung fähig.

Der Moment der Berührung zwischen Spitze und Quecksilber wird direkt beobachtet, ohne Zwischenstellung der Glaswand zwischen Auge und beobachtetem Punkt, infolge zweckmäfsiger Höhe der Gefäfswand, die derart ist, dafs sie mit aller Bequemlichkeit das sichtliche Erfassen der Berührung über dem Rand des Gefäfses gestattet. Überdies ist die Gleichheit der Bedingungen bei jeder Ablesung dadurch garantiert, dafs die betreffende Beobachtung durch ein im Pappschirm angebrachtes Löchchen stattfindet. Um nun diese Beobachtungen einer absoluten Genauigkeit möglichst nahe zu bringen, wurde dazu stets ein Vergröfserungsglas verwendet, das an dem Glas mittels eines gabelförmigen Gestells und einer Druckschraube an das Gefäfs festgefügt werden kann und mit Hilfe eines biegsamen Armes beweglich bleibt.

Die Gröfsenverhältnisse des Gefäfses wurden derart berechnet, dafs auch mit einem grofsen Fehler in der Festsetzung des Kontakts zwischen Spitze und Quecksilberfläche (ein Fehler von $^1/_{10}$ mm), dieser bei Ablesung einundeinhalbes Hundertstel ccm nicht überschreiten kann.

Will man zu genauen Ergebnissen gelangen, so ist auch eine zweckmäfsige Erleuchtung des Apparats erforderlich, und zwar mit gleichmäfsigem, diffusem Licht, und das besonders auf dem Quecksilberspiegel, damit der Moment der Berührung zwischen Spitze und Quecksilber genau festgesetzt werden kann. Zuweilen unterliefen uns Fehler infolge eines zu raschen Ablaufens des Quecksilbers aus den Büretten, Fehler, die leicht zu verstehen sind, insofern, als die zum Schliefsen des

Hahnes nötige Zeit unter solchen Umständen ein noch weiteres Ausfliefsen der Flüssigkeit zuliefs, nach dem Zeitpunkt also, in dem das Auge uns schon von dem Kontakt in Kenntnis gesetzt hatte. Zur Ausschiebung auch dieser Fehlerquelle beschränkten wir die Öffnungsmöglichkeit des Hahnes der kleinen Bürette, und um nun hierin auch das stete Gleichmafs der Bedingungen vorzufinden, brachten wir, wie beschrieben, zwei Vorlegestücke an, bis zu welchen der Hahn bei jeder Bestimmung gedreht werden mufste.

Die Ablesung des jedesmaligen Standes der Flüssigkeit in der grofsen Bürette geschieht mittels eines Schwimmers, der einen feinen, kreisförmigen Teilungsstrich trägt; wurde bei Lesung dieser Bürette ein Fehler begangen, der $^1/_{10}$ mm Höhe erreicht, so würde dies einem Volumenfehler von 5 cmm entsprechen.

Anderseits kann man nicht a priori annehmen, dafs die Kurvendifferenz in dem Meniskus des Quecksilbers zu einer Fehlerquelle werden kann, dadurch dafs er auf die Lage des Schwimmers einwirkt, eben weil das Ablesen stets nach mehr oder weniger starkem Sinken des Quecksilbers in der Bürette erfolgte, wobei stets derselbe Meniskus vorhanden ist.

Mit diesen Betrachtungen stimmen die aus einer ganzen Reihe von Beobachtungen erhaltenen Zahlen überein, Beobachtungen, bei denen jeder andere Teil des Apparats unbeweglich blieb, was eben nur den Zweck hatte, den Fehler in der Ablesung an der grofsen Bürette zu bewerten.

Hinsichtlich des Flüssigkeitsstandes der kleineren Bürette kann angesichts des geringen Durchmessers der Bürette in der Ablesung kein bemerkenswerter Fehler auftreten. Bei den von uns ausgeführten Proben mit feststehendem Gefäfs und Festhaltgestell und verschiedenem Stand in den beiden Büretten ergaben sich nie 5 cmm übersteigende Unterschiede.

Daran denken zu wollen, dafs Ausdehnung des Quecksilbers infolge Temperaturveränderung Anlafs zu Fehlern geben könne, dafür liegt keine Berechtigung vor, denn die beiden zur Bestimmung nötigen Ablesungen erfolgen zu rasch hintereinander, und

der gröfseren Sicherheit wegen ist überdies das vorbeschriebene Schild zwischen dem Experimentierenden und dem Gefäfs angebracht, wodurch eine eventuell von diesem ausgehende Wärme abgehalten wird.

Es könnte nun noch auf eine andere Fehlerquelle hingewiesen werden, nämlich auf die Kapillarität oder besser, die Depression des Quecksilbers. Die Ablesungen finden jedoch immer mit dem Quecksilber statt, das allmählich in die Röhren absteigt, und so könnte also dieser Fehler nicht bedeutend sein. Nehmen wir auch den Fall an, dafs er aus ganz besonderen Gründen vorkommen könne, so würde er doch angesichts der Diameterverhältnisse zwischen dem Gefäfs und den Büretten nur winzig klein sein und ganz und gar übergegangen werden können.

Schliefslich kommen wir auf die Natur der von uns zur Immersion verwendeten Flüssigkeit selbst zu sprechen und können da feststellen, dafs das Quecksilber sich zweifellos nicht nur zur Bestimmung aller Baumaterialien vorzüglich eignet (und das ist unser besonderer Zweck), sondern auch zur Determination sehr vieler anderer fester Körper dienen kann, denn ausgenommen davon sind nur alle jene Materien, die mit ihm Verbindungen oder Mischungen eingehen, wie z. B. das Kupfer, das Gold, das Silber.

Nichts berechtigt uns zu der Annahme, dafs die besagten Mindestfehler sich summieren oder sich gegenseitig ausschalten; was wir indes behaupten können, ist, dafs nach zahlreichen Proben niemals ein Fehler hervortrat, der sich auf mehr als 1 ccm belaufen hätte.

Dieser analytisch berechnete und experimentell nachgewiesene Gesamtfehler bleibt konstant, welches auch immer die Dimensionen des zu prüfenden Materials sein mögen. Je gröfser somit das scheinbare Volumen des Probestückes ist, desto geringfügiger wird der Fehler sein.

In der Absicht, die uns von diesem Apparat gelieferten Angaben zu prüfen, haben wir unsere Zuflucht zu verschiedenen Versuchen genommen. Damit wir nun unter Verhältnissen arbeiten konnten, die uns erlaubten, zuverlässige Vergleiche anzustellen mit dem Piknometer, der nach unserer Ansicht zu Vergleichen der am genauesten arbeitende Apparat ist, handelte es sich vor allem darum, ein Material zu verwenden, das auch bis in die kleinsten Stückchen möglichst homogen war. Auf diese Weise gelang es uns mit Hilfe der Kombination verschiedener Stücke, gleiche oder sehr naheliegende Bestimmungen bezüglich des spezifischen Gewichts zu erhalten. Wir zogen demgemäfs das Glas zu unseren Versuchen heran, und zwar teilweise in Gestalt von kleinen, zylindrischen Stäbchen und sehr unregelmäfsigen Stücken, die durch Zerbrechung 10 mm dicken Krystalls erhalten worden waren.

Diese Versuche, deren Einzelheiten wir der Kürze halber übergehen, haben uns stets äufserst zufriedenstellende Ergebnisse geliefert, die uns zu nachstehenden Folgerungen berechtigen:

1. Die mit der Quecksilbermethode erhaltenen Volumen weisen eine relative Proportion zu dem absoluten Gewicht der Versuchsstücke auf, und dieses Resultat wird deutlicher erreicht als mit dem Piknometer.
2. Ist in der Zahl des absoluten Gewichts eine bestimmte Grenze überschritten (ca. 4 g), so bleibt mit dem darauffolgenden Anwachsen desselben das von dem Quecksilber gegebene scheinbare Volumen immer unter dem vom Piknometer gegebenen.
3. Die mit unserem Apparat bewerteten spezifischen Gewichte in Verbindung mit den schon angeführten Verschiedenheiten im scheinbaren Volumen resultieren stets höher als die von dem Piknometer unter gleichen Verhältnissen gemessenen;
4. der Unterschied zwischen den mit der Quecksilbermethode erhaltenen spezifischen Gewichten ist, laut vorgenommenem Vergleich, bei einer bestimmten Grenze des absoluten Ge-

wichts beginnend (2 g), niemals höher als $^{2}/_{100}$ ccm, während unter den vom Piknometer gelieferten Werten der Unterschied zuweilen bis zu $^{1}/_{10}$ ccm ansteigt;

5. der Unterschied ist beim Piknometer noch viel bedeutender, wenn die Stücke sehr klein sind.

Dafs nur der Piknometer bei relativ kleinvolumigen Materialien und bei denen von verhältnismäfsig grofsem Volumen weniger genaue Messungen liefert, läfst sich unschwer begreifen, wenn man berücksichtigt, dafs im ersten Falle die der Methode anhaftenden Fehler von nicht zu unterschätzender Bedeutung sind, da sie doch auf ein kleines Volumen verteilt sind (so erhielten wir mit einem kleinen, von einem Stäbchen abgeschnittenen, 0,1436 g wiegenden Stück Glas, welch' ersteres ein spezifisches Gewicht von ungefähr 2,65 aufwies, ein spezifisches Gewicht von 3,4430). Im zweiten Fall vermehrt sich die Existenzmöglichkeit von Fehlern infolge kleiner, dem Material anhaftender Luftbläschen, infolge der Umständlichkeit, das Gefäfs gut zu schliefsen und vor allem infolge der Schwierigkeit, die Dichtigkeit des Wassers auf 4° zu bringen.

Mit einer zweiten Versuchsreihe haben wir uns vorgenommen, auszuforschen, ob mit unregelmäfsig geformtem Material bei Bestimmungen mit einem einzigen Stück oder bei zu summierenden Teilbestimmungen infolge von Lufteinschlufs oder nicht vollständigem Kontakt des Quecksilbers mit den verschiedenen Oberflächen der Versuchsstücke ein Fehler vorgefunden werden könne. Überdies experimentierten wir mehrere Male mit denselben Stücken, indem wir sie dabei verschiedene Stellungen einnehmen liefsen. Die so nach zahlreichen Prüfungen erhaltenen Ergebnisse waren jeder Verschiedenheit bar.

Es sei an dieser Stelle noch darauf hingewiesen, dafs bei Bestimmungen mit Quantitäten von Stücken, deren spezifisches Einzelgewicht vorher festgestellt worden war, wir stets eine Ziffer erhielten, die der Durchschnittszahl der Einzelbestimmungen entsprach.

Auf Grund unserer Untersuchungen glauben wir also zu nachfolgenden Schlüssen berechtigt zu sein, die besagen:

Der vorgeschlagene und ausgeprüfte Apparat arbeitet bis auf $^1/_{10}$ ccm mit absoluter Genauigkeit, bis auf $^1/_{100}$ ccm mit relativer Genauigkeit, wobei jedoch niemals $^2/_{100}$ ccm übersteigende Fehler vorkommen.

Die Handhabung des Apparats ist einfach, zeitersparend und verlangt keiue lange Vorübung von seiten des Experimentierenden.

Jede beliebige Materialprobe kann mit diesem Apparat gemessen werden, ohne vorher einer Vorbehandlung unterliegen zu müssen.

Jede Lesung findet ist bei diesem Apparat direkt statt ohne Zuhilfenahme besonderer Korrektionsvorrichtungen und ist also äufserst einfach.

Zur Berechnung des spezifischen Gewichts ist auf der Wage nur eine einmalige Gewichtsmessung der Materialproben vorzunehmen.

Was nun nach unserer Ansicht dem Apparat den gröfsten Wert verleiht, ist die Tatsache, dafs man auch mit Stücken grösseren Volumens eine bis auf $^1/_{100}$ ccm gehende Genauigkeit erhält, was eben beim Piknometer nicht der Fall ist.

158

Über Anpassung und Vererbung bei Bakterien.

Zugleich ein Beitrag zur Aerobiose anaerober Bakterien.[1])

I. Mitteilung.

Von

R. Grafsberger.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Wien.)

Die Gesetze der Anpassung und Vererbung sind bereits mehrfach auch bei Bakterien verfolgt worden. Meist handelte es sich wohl bei solchen Arbeiten mehr um Übertragungen der an höheren Organismen gewonnenen Erfahrungen auf die Beobachtungen, soweit sie bisher in der umfangreichen bakteriologischen Literatur vorliegen, oder um Berücksichtigung einzelner spezieller, biologisch interessanter Details, seltener um eine ausreichend vollständige Analyse der an einer bestimmten Bakterienart im Verlaufe der Züchtung auftretenden Erscheinungen.

Und doch laden gerade die hier bestehenden Verhältnisse zu einem ähnlichen züchterischen Spezialstudium ein, wie es vielfach mit Geduld und Ausdauer von Züchtern in der höheren Organismenwelt versucht worden ist. Einfache Formen, ein anscheinend überaus einfacher Mechanismus der Fortpflanzung, die Möglichkeit, die Organismen zu züchten und in verhältnismäfsig kurzer Zeit eine grofse Zahl von Generationen zu erhalten, schaffen günstige Vorbedingungen.

1) Vortrag, gehalten in der morphologisch-physiologischen Gesellschaft in Wien am 14. März 1905.

Hierzu kommt noch die Gelegenheit, die gleichzeitig oder neben den Veränderungen der Formen vor sich gehenden Änderungen des Chemismus zu studieren.

Freilich eignet sich für solche Studien nicht jede Bakterienart. Wir werden von solchen Bakterien, die bei den verschiedenen Einwirkungen natürlich oder künstlich geänderter Lebensbedingungen morphologisch bzw. biologisch träge reagieren, deren Ausschläge sich z. B. in bezug auf den Chemismus in dem wechselnden Erscheinen oder Ausbleiben schwierig zu isolierender oder nur in geringer Quantität nachweisbarer charakteristischer Stoffe äufsern, kaum viel zu erwarten haben.

Viel eher werden uns solche Bakterien Dienste leisten, die überaus empfindlich, auf jeden Reiz mit sozusagen übertriebenen Ausschlägen reagieren, Bakterien, welche, etwa als Gärungserreger grofse Quantitäten gut charakterisierter Stoffe ausscheiden.

Handelt es sich weiters um verhältnismäfsig grofse Bakterien, denen wir mit unseren üblichen mikroskopischen Hilfsmitteln in das Innere der Zelle hineinsehen können, deren wechselnde Zustände durch die unter geeigneten Bedingungen vor sich gehende Bildung von Dauerformen — Sporen — in bequemer Weise konserviert werden können, dann scheinen allerdings diese günstigen Vorbedingungen zusammenzutreffen.

Derart liegen die Dinge nun bei einer Anzahl jener anaeroben Bakterien, die insbesonders wegen ihrer menschen- und tierpathogenen Eigenschaften andauernd das Interesse der Bakteriologen fesseln.

Die Schwierigkeiten der Züchtung, welche vor allem darin liegen, dafs die genannten Bakterien in ihrem vegetativen Zustand eine überaus grofse Empfindlichkeit gegenüber dem freien Sauerstoff zeigen, bieten bei dem heutigen Stand der Technik eher einen Reiz als eine Verlegenheit.

Die nachfolgend mitgeteilten Erfahrungen beziehen sich im wesentlichen auf den »anaeroben Rauschbrandbazillus«, den vor längerer Zeit entdeckten Erreger des Rauschbrandes, einer Tier-

seuche, die seit mehreren Jahren der Gegenstand eingehender Untersuchungen von Schattenfroh und mir ist.

Im Interesse des Zusammenhanges sei es gestattet, unsere bisherigen Ergebnisse kurz wiederholend zusammenzufassen.

Ich will vorausschicken, dafs wir im rauschbrandkranken Tier unsere Stäbchen in verschieden virulentem Zustand antreffen. Gerade die virulentesten Rassen sind verhältnismäfsig schwer züchtbar. Wir haben grofse Mühe, sie an unsere üblichen Nährböden anzupassen, und anderseits zeigt uns eine Betrachtung der primär aus dem Originalsaft erhaltenen Kolonien, dafs bei diesem ersten Versuche die Stäbchen durch sehr charakteristische Gestaltsveränderungen die schwierige Anpassung verraten.

Zunächst verweise ich auf das Bild (s. Bd. 48, T. XI, Nr. 66), welches unsere Stäbchen häufig zeigen, wenn wir einen Tropfen Rauschbrandsaft auf ein Deckglas streichen und mit Gentianaviolett färben.

Wir treffen hier eine Anzahl von mäfsig grofsen Stäbchen, sie liegen gewöhnlich zu weit, manche von ihnen zeigen eine Differenzierung. Oben im Bilde zeigt sich eine Kette von vier auffallend dicken Exemplaren.

Um diese Stäbchen zu züchten, geben wir einen Tropfen des Saftes in eine unserer verflüssigten Gallerten (Agar oder Gelatine), mischen und giefsen in eine sog. Petrischale, wobei wir zweckmäfsigerweise, um die Anpassung zu erleichtern, kleine Stückchen sterilen Rindermuskels — den die Sttäbchen von früher her kennen — mit einschliefsen, wir lassen erstarren und geben die Schalen unter anaeroben Verschlufs, am besten so hergestellt, dafs wir aus dem Aufbewahrungsraum die Luft durch einen kräftigen Strom von reinem H. vertreiben.

Nach 24 Stunden (s. Bd. 48, T. VI, Nr. 31) zeigen sich in der Umgebung des wachstumbefördernden Rindermuskels stecknadelkopfgrofse primäre Kolonien.

Fertigen wir von solchen Kolonien Präparate an, so zeigt sich ein auffälliges Bild.

Wir sehen statt oder neben den früher gesehenen regelmäfsig geformten Stäbchen eine grofse Zahl spindelförmig oder kolben-

förmig geschwollener Gebilde, welche die Färbung mit Gentiana schlecht annehmen.

Es handelt sich hier nicht etwa um in gewöhnlicher Weise degenerativ veränderte Individuen, wie wir sie oft in unseren alten Bakterienkulturen antreffen, um die bekannten Absterbeerscheinungen (Alterserscheinung der Kultur), sondern um einen ganz spezifisch degenerativen Prozefs (s. Bd. 48, T. II, Nr. 9).

Die Behandlung eines solchen Präparates mit Lugolscher Lösung gibt uns sofort die Richtung an, in der sich unsere Nachforschungen zu bewegen haben. Es zeigt sich, dafs bei dieser Behandlung die Individuen fast entsprechend der Abweichung ihrer Form vom normalen Typus, sich mit Jod intensiv braun bis schwarzviolett färben.

Es handelt sich demnach um eine Degeneration, die durch das diffuse Auftreten einer mit Jod färbbaren Substanz — wir nennen sie schlechtweg Granulose — ausgezeichnet ist. Diese Zellen sind oft so schwer erkrankt, so hinfällig, dafs alle Versuche, die Kolonien auf die üblichen bakteriologischen Nährböden (flüssige und Gallerten) zu übertragen, fehlschlagen, indem sie die bei der Übertragung unvermeidlichen Schädigungen nicht überstehen.

Gelingt die Übertragung, dann sind wir in der Lage, den eben besprochenen Prozefs der Einlagerung der Granulose genauer zu verfolgen.

Übertragen wir von solchen oder anderen primären Kolonien in zuckerhaltige, mit Kreide versehene flüssige Nährböden, so tritt nach wenigen Stunden stürmische Gärung ein (Buttersäuregärung). Dabei zeigen die meisten Individuen das typische Verhalten jener Bakterien, welche als überall verbreitete (Boden, Darm etc.), anaerobe Buttersäuregärungserreger bekannt sind (vgl. Bd. 42, T. V u. Bd. 48, T. II).

Wir sehen bei Färbung mit Gentianaviolett den färbbaren Teil der Zellen an das eine Ende gerückt, während der übrige Teil der Zelle bei mehr minder starker Anschwellung blafs gefärbt erscheint.

Jodfärbung zeigt sofort, dafs hier grofse Mengen von Granulose eingelagert sind. Es handelt sich um ein altbekanntes Phänomen, welches solche typische Buttersäurebakterien zeigen, wenn sie bei Gegenwart von Zucker versporen. Sie bilden Klostridien.

Die Zellen befinden sich im Stadium der Sporenanlage. Im weiteren Verlaufe kommt es bei einem Teil der Zellen zur Entwicklung der reifen Spore, die entweder endständig bleibt oder vor dem Zerfall der Zelle mehr gegen die Mitte rückt.

Ein grofser Teil der Zellen aber kommt nicht zur Sporenreife, sie füllen sich vollständig mit Granulose und verfallen dem Untergang.

Die Sporen aus solchen Gärkolben fixieren jenen Zustand, den wir als den typischen Buttersäurebakterien zukommend beschrieben haben.

Es erhebt sich nun sofort die Frage, ob wir den eben geschilderten Prozefs, Versporung mit intermediärem Auftreten von Granulose, im Sinne des Auftretens beträchtlicher Mengen einer Reservesubstanz etwa als Zeichen eines Fortschrittes zu einer höheren Organisation begrüfsen dürfen. Die Frage ist verschieden gedeutet worden. Zugunsten der eben geäufserten Auffassung — man hat geradezu von einem Granuloseorgan gesprochen — läfst sich anführen, dafs der Prozefs sich häufig im Rahmen einer gewissen unverkennbaren Regelmäfsigkeit vollzieht, dafs ferner in der Tat wenigstens eine Anzahl der Zellen je eine normale, ziemlich grofse Spore entwickelt.

Man kann aber anderseits darauf hinweisen, dafs stets erhebliche Mengen von Zellen vorzeitig zugrunde gehen, dafs weiters bei künstlicher Übertreibung des Prozesses zweifellos biologisch wertlose, sterile Sporen erzeugt werden (s. Bd. 42, T. V, Nr. 5, 6; Bd. 48, T. II u. III, Nr. 12 u. 13).

Es gelingt leicht, bei passender Auswahl der zur Züchtung verwendeten Rassen und passender Wahl des Nährbodens, die Zellen so zu beeinflussen, dafs sie auch in die Sporenanlage je ein Granulosekorn einschliefsen.

Es kommt dann im Anschlufs zum Freiwerden von Sporen, die lebhaft glänzen und ebenso wie normale Sporen sich mit Gentianaviolett nicht färben, wohl aber mit Jod ein deutlich abgegrenztes Granulosekorn im Innern erkennen lassen. Aber diese Sporen keimen, auf Nährböden gleicher oder anderer Zusammensetzung gebracht, nicht aus, sie sind, biologisch betrachtet, wertlos.

Ja, überträgt man besonders schwer anzupassende primäre Kolonien des Rauschbrandbazillus unter Verwendung geeigneter Hilfssubstanzen (steriler Rindermuskel) in Kolben mit Zuckerbouillon und Kreide, so sehen wir zwar wieder (s. Bd. 48, T. II, Nr. 8) stürmische Entwicklung mit energischer Gärung, die Spaltung der Zellen geht ungemein rasch vor sich, eine Anzahl von Nachkommen lenkt in Versporung, die Granulose füllt aber bald das ganze Stäbchen aus und dieses geht vorzeitig zugrunde. Diese Gärkolben bieten mitunter das Bild lebhaft gärender Flüssigkeiten, mit reichlicher Gegenwart von Zellen, doch jeder Versuch einer Übertragung vom gärenden Inhalt, selbst auf Gärflüssigkeiten derselben Zusammensetzung (5 ccm), schlägt fehl. Es ist dies ein Experiment, das uns wichtige Anhaltspunkte gibt für die Beurteilung so vieler mifslingender Versuche, aus manchen Spontangärungen die Erreger auf kurzem Wege zu züchten. Trotz reichlicher Vermehrung und auffälliger Gärung sind die Organismen schlecht angepafst und gehen bei neuerlichem Nährbodenwechsel ausnahmslos zugrunde.

Auch Bejeringk erwähnt solche Bakterien, die nur einmal gären und nicht wieder.

Man braucht nun nur noch hinzuzufügen, dafs gelegentlich ruhende Formen anderer Bakterien, die in solchen Spontangärungen enthalten sind, bei Neuübertragung und Ausschaltung der eigentlichen Erreger zur Entwicklung kommen, oder dafs die eigentlichen Erreger, wenn ihre Anpassung bei Neuübertragung gelingt, Form und Chemismus ändern, um einzusehen, dafs hier in der Tat eine Quelle von Mifsverständnissen vorliegt, die geeignet sind, in unsere Literatur der Gärungserreger Zwie-

tracht und Unfrieden zu säen, was auch in der Tat in hohem Maſse der Fall ist.

Nur die strengste Kritik, und das immer wiederholte Ausgehen von Sporenreinmaterial kann hier Aufklärung schaffen.

Ein anderer Weg, um über den Prozeſs der Granuloseeinlagerung Aufschluſs zu gewinnen, ist der, daſs man sich die Frage stellt, ob das Auftreten dieser Substanz für die Versporung dieser Bakterien nötig ist. Man kann sehr leicht zeigen, daſs dies keineswegs der Fall ist, daſs diese Bakterien auch ohne Granuloseaufspeicherung versporen können.

Durch Wahl eines geeigneten Nährbodens, der keine gröſseren Mengen von Kohlehydraten enthält (steriler Rindermuskel), und Anwendung eines altbekannten Kunstgriffes gelingt dies nach folgendem Rezept:

Auswahl spornlierender Rassen, Übertragung auf sterilen Rindermuskel — sobald die ersten Sporen gebildet, wird vorsichtig pasteurisiert — die Stäbchen und minderwertigen Sporen gehen zugrunde, Übertragung auf Rindermuskel — neuerlich Versporung — neuerlich Pasteurisierung — nach ungefähr 6—7 maliger Wiederholung bekommt man nun Sporen, die folgende Eigenart zeigen. Sie keimen aus, die Stäbchen teilen sich und lenken bald, nahezu gleichzeitig in eine überaus gleichartige und regelmäſsige verlaufende Versporung. An einem Ende sitzt die Sporenanlage, das Stäbchen ist dabei mäſsig und ziemlich gleichmäſsig vergröſsert, Granulose fehlt oder tritt nur vorübergehend in Spuren auf (s. Bd. 48, T. I, Nr. 4, 5, 6).

Wenige Stunden nach diesem Vorstadium rückt die Spore wie auf Kommando in die Mitte, wobei gleichzeitig Glanz und das ablehnende Verhalten gegenüber Gentianaviolett auftreten. Die reifen Sporen, auf frischen Nährboden gebracht, keimen oft fast ausnahmslos aus.

Wir haben nun durch geeignete Züchtung bei einer Bakterienart zweierlei verschiedene Versporungsformen hervorgerufen. Zwischen beiden gibt es Übergänge und ein Heer von Zellen, die in frühem oder spätem Stadium der Versporung vorzeitig verunglücken. Die Übergänge und die Miſsbildungen sind so

häufig, dafs wir sogar besondere Bedingungen einhalten müssen, um sie auszuschliefsen. Derartiges kommt bei vielen anderen Bakterienarten vor.

Ich verweise hier auf die eigentümliche Form der Versporung, wie wir sie so oft beim Ödembazillus unter dem Einflufs von Zucker verlaufen sehen. Es werden hier (s. Bd. 48, T. VII, Nr. 39 u. 40) in einem Stäbchen (Doppelstäbchen mit ausgebliebener Trennung der Individuen) zwei Sporenanlagen gebildet, von denen in der Regel eine (oft auch beide) verkümmert. Die betreffenden Bilder erinnern an bipolar gefärbte Stäbchen, wie wir sie bei manchen, nicht sporulierenden Bakterienarten antreffen. Es mag sich hier vielleicht manchmal in der Tat um mifslungene Ansätze zur Versporung handeln.

Wir müssen alle die genannten abnormen Versporungsfälle genau kennen, wenn wir z. B. den Vorgang der normalen Versporung studieren. Ein Gesichtsfeld solcher sporulierender Bakterien ist oft einem Schlachtfeld, reich an Krüppeln und Leichen, zu vergleichen. Es liegt nun die Gefahr nahe, dafs solche Morphologen, die in ihren Kulturen immer nur auf die Art und nicht auf die Individuen Rücksicht nehmen, absammeln gehen, sie nehmen, indem sie aus dem Nebeneinander ohne weiteres auf das Nacheinander schliefsen, von der einen Zelle ein Körnchen, von der anderen ein Fäserchen, und konstruieren so ein überaus farben- und namenreiches Bild der normalen Versporung. In der Wirklichkeit verläuft aber die normale Versporung anscheinend unter dem Bild sehr einfacher Formen. Der bio-chemische Vorgang hierbei ist gewifs sehr kompliziert — dafür sprechen schon die häufigen Störungen im Ablauf — doch es scheint, als ob die normalen Stäbchen ihre Geheimnisse ungern preisgeben.

Ich will allerdings nicht verschweigen, dafs unter Umständen solche überaus normale Sporen ein eigentümliches Verhalten zeigen. Die Stäbchen, die aus ihnen ausschlüpfen, vermehren sich nur einige Male, sie wenden sich lange, bevor der Nährboden auch nur halbwegs ausgenutzt ist, neuerlich zur Versporung, sie sind sozusagen übertrieben vorsichtig geworden.

Recht lehrreich sind Versuche, welche zeigen, dafs die derart gewonnenen normalen Sporen nun auch bei neuerlicher Aussaat in zuckerhaltige Nährböden, keineswegs mehr dieselbe Neigung zur übertriebenen Einlagerung von Granulose besitzen, sie sind erblich für einige Zeit von der spezifischen Degeneration zurückgestofsen bzw. geheilt.

Zu einem andern, bemerkenswerten Zustand des Rauschbrandbazillus gelangen wir, wenn wir Kulturbedingungen wählen, bei welchen eine rasche Aufeinanderfolge von Generationen ohne einfallende Versporung befördert wird.

Ich verweise zunächst ein Bild einer solchen Rauschbrandkultur, die sich am Übergang zum asporogenen Zustand befindet (s. Bd. 48, T. II, Nr. 7).

Man sieht (bei Jodfärbung) die Granulose in feinen Körnchen diffus verteilt auftreten, die Versporung bleibt aus. Mit Gentiana gefärbt zeigen diese abnormen Zellen einen sehr schönen wabigen Bau. Bei normalen Zellen sind die Wabenräume viel kleiner. Bei ganz normalen so klein, dafs man sie nicht sieht.

Man gelangt derart oft mit einem Schlage, einer einzigen Kultur zu asporogenen Rauschbrandkulturen. Mit diesem Zustand ist eine weitgehende Gestaltsänderung verbunden, die Stäbchen werden plump und, was das wesentlichste ist, während die nicht denaturierten Rauschbrandbazillen im Extrem lebhaft beweglich und peritrich begeifselt sind (s. Bd. 48, T. I, Nr. 2), sind diese asporogenen Zustände vollkommen unbeweglich, geifsellos (s. Bd. 48, T. V, Nr. 25). Dieser Zustand wird vererbt und unter Umständen zähe festgehalten.

Die Übergänge zwischen beiden Zuständen sind ungemein zahlreich, hier finden sich alle Kombinationen vor, indem nicht selten die Stäbchen bereits plumpe Gestalt besitzen, aber noch reichlich Geifsel tragen.

Der eben besprochene asporogene, geifsellose Typus ist insofern recht interessant, als auch andere Buttersäurebakterien einen derartigen Dimorphismus aufweisen. Der Erreger der häufigsten Form der menschlichen Gasphlegmone ist ein solcher

unbeweglicher Zustand eines Buttersäurebazillus, der von seinem Entdecker als eigener Bazillus isoliert und beschrieben wurde.

Man kann, allerdings nur dann, wenn dieser unbewegliche Zustand nicht durch zu häufige Aufeinanderfolge gleichartiger Züchtung fest vererbt ist, leicht Rückschläge erzielen und sieht dann wieder Sporen und Geifseln auftreten.

Auch dieser asporogene, geifsellose Typus ist streng anaerob. Passini hat eine sehr verwendbare und einfache Methode angegeben, solche asporogene Zustände wieder sporogen zu machen (Passini, Jahrbuch f. Kinderheilkunde 1903, Zeitschrift f. Hygiene 1905).

Bemerkenswerte Differenzen ergeben sich nun, nach den Beobachtungen Schattenfrohs, wenn man die in den Gärkolben gebildeten Gärprodukte analysiert, es zeigt sich, dafs im einen Extrem (bewegl. Zustand) bei der Vergärung von Zucker überwiegend Buttersäure gebildet wird, während im anderen Extrem (unbeweglicher Zustand) überwiegend Rechtsmilchsäure ausgeschieden wird. Diese Unterschiede zeigen sich nur in den Extremen ausgebildet, bei den Übergangszuständen ist oft der eine Chemismus mit den anderen Formen verbunden.

Sehr instruktive Bilder liefern nicht selten Kolonien des beweglichen Zustandes, die der Denaturierung nahestehen, wenn wir von einer solchen Kolonie in Zuckeragarstich übertragen. Es tritt ein ausgesprochener Dimorphismus auf, indem die zur Entwicklung gelangenden Stäbchen zwei Wege einschlagen, die einen bleiben dünn und beweglich, die anderen werden dick und unbeweglich (s. Bd. 48, T. X, Nr. 54).

Es wäre weit gefehlt, wenn wir etwa den früher geschilderten Chemismus des Rauschbrandbazillus, bei welchem sich dieser als typischer Kohlehydratvergärer beweist (Bildung von Buttersäure oder Rechtsmilchsäure), als den einzigen, zur Beobachtung kommenden ansehen wollten, sondern man kann leicht zeigen, dafs bei geeigneter Wahl des Nährbodens der Rauschbrandbazillus im Sinne eines Fäulnisbazillus ein energischer Eiweifszersetzer ist. Nach der gegenwärtigen Auffassung von Schattenfroh und mir ist

der Rauschbrandbazillus, so wie er sich im Tiere findet, am Übergang zwischen Fäulnis und Gärung. Lassen wir ihn in diesem Übergangszustand in geeigneten, Dextrose enthaltenden Nährböden zur Entwicklung kommen, so scheidet er seine Gifte aus. Ich will auf diesen abseits liegenden Gegenstand nicht eingehen, sondern mich auf das morphologische beschränken.

In dieser Hinsicht ist es nun bemerkenswert, dafs wir, wenn wir von primären Kolonien des Rauschbrandbazillus ausgehen und auf geeignete Nährböden übertragen (Vermeidung von Zucker), auch parallel mit dem Chemismus (Fäulnis) eine Alteration der Versporungsvorgänge beobachten können. Die Stäbchen bleiben beweglich, zart, sie entwickeln am einen Ende eine Sporenanlage, dieselbe ist aber scharf vom übrigen Stäbchen abgegrenzt, sie bleibt bei der Reife am Ende (vgl. Bd. 48, T. IX, Nr. 52).

Dieser Modus der Versporung ähnelt ganz jenem, wie wir ihn bei einem anderen typischen anaeroben Fäulnisbakterium, dem Bienstockschen Bakterium zu beobachten gewohnt sind. Auch hier gibt es reichlich während der Sporulierung Unglücksfälle.

Eine überaus oft zu beobachtende Versporungskrankheit ist die, dafs die Sporenanlagen massenhaft unreif abfallen und sie liegen dann im Gesichtsfelde wie Kokken verstreut umher.

Auch diese Zustände werden nun durch Sporulierung fixiert, erblicher Besitz, derart, dafs nun bei Übertragung in Zuckerbouillonkolben keineswegs mehr die typische Buttersäuregärung, die typische Klostridiumform zur Entwicklung gelangt, ebenso wie umgekehrt typische Klostridien, auf zuckerfreie Nährböden geimpft, zunächst noch reichlich Granulose bilden. Die weitere Verfolgung der Übergänge und Rückschläge ist derart kompliziert, dafs sie sich für eine kurze Darstellung nicht eignet.

Es bleibt uns noch eine Aufgabe zu lösen, das Verhältnis des Rauschbrandbazillus zu den aeroben Bakterien festzustellen. Die Bemühungen, streng anaerobe Bakterien in aerobe umzuwandeln, sind verhältnismäfsig recht alt. Zum Teil handelt es sich hier freilich um Beobachtungsfehler. So wurde die Tatsache, dafs bei üppiger Entwicklung von streng anaeroben

Bakterien in flüssigen Nährböden eine Übertragung gröfserer Mengen der Kultur in ausgekochte Nährflüssigkeit zum Anwachsen führt, auch wenn für Abschlufs gegenüber dem O der Luft nicht Sorge getragen wird, falsch gedeutet. Die einmal im Gang befindliche Gärung hält durch die beständige Produktion von CO_2 und anderen Gasen den Nährboden andauernd hinreichend frei von O. Man darf hier nicht von aerobem Wachstum sprechen. Andere Beobachter wieder gingen so vor, dafs sie aus Spontangärungen gleichzeitig aerobe und anaerobe Bakterien züchteten und als aerobe bzw. anaerobe Formen derselben Bakterien beschrieben.

Sie mögen hie und da Recht gehabt haben, sind aber wohl den Beweis für die richtige Anschauung schuldig geblieben, der nur durch Überführung von strengen Reinkulturen von der Anaerobiose zur Aerobiose erbracht werden kann. Auch mufs betont werden, dafs man bei der Deutung von Befunden, darin bestehend, dafs aus lange gärenden Kolben nach Wochen aerob wachsende Bakterien gezüchtet werden, sehr vorsichtig sein mufs. In solchen lange gärenden Kolben, die eventuell mehrmals geöffnet werden, kommt es doch gelegentlich zur Verunreinigung durch aerobe Bakterien. Es mufs deshalb der Wunsch ausgesprochen werden, diese sog. Umzüchtung ausschliefslich auf festen Nährböden, wo die Verhältnisse sich gut überblicken lassen, vorzunehmen. Ich möchte übrigens die Gelegenheit ergreifen, hier auf einige Erscheinungen hinzuweisen, die wir in unseren Rauschbrand-Giftkolben, die sich oft durch 14 Tage in Nachgärung befinden, feststellen konnten.

Wir verwenden als geeignete Zustände zum Impfen dieser Kolben sog. halbdenaturierte Rauschbrandbazillen. In diesen Kolben kommt es nun während der Nachgärung (wobei die zuerst ausgeschiedene Rechtsmilchsäure in Buttersäure vergoren wird) zu üppigen Zoogloeen von Fäden und Ketten, die sehr häufig ihren Rückschlag zum sporulierenden Zustand durch herdweise Einlagerung von Granulose verraten (s. Bd. 48, T. IV, Nr. 19—24).

Solche Vegetationen geben oft ganz das Bild von Leptothrixfäden[1]), sie gleichen ihnen auch darin, dafs es nicht gelingt, sie mit Erhaltung der charakteristischen Formen herauszuzüchten. Aerobe und anaerob angelegte Kulturen bleiben steril, oder es entwickeln sich charakteristische Rauschbrand-Klostridien-Kulturen, was kaum als Rückschlag der Leptothrixformen aufgefafst werden darf, sondern so gedeutet werden mufs, dafs es gelegentlich in solchen Spätgenerationen unter Zerfall der Fäden in Ketten zum Auftreten von Clostridiensporen kommt.

Solche Sporen liefern Kulturen, die brillant milchsauren Kalk unter Entstehung von buttersaurem Kalk vergären und noch eine Besonderheit zeigen. Die Kulturen, in Kalziumlaktat-Bouillon gezüchtet, zeigen stets bewegliche Stäbchen, die, bei nicht zu hoher Konzentration des Kalziumlaktat, nicht versporen und keine Granulose bilden, und diese Eigenheit, durch beliebig viele Generationen fortgezüchtet, bewahren. Trotzdem behalten sie die Neigung für diese eigentümliche Stoffwechselanomalie. Läfst man zur 10. Kulturfolge einen Tropfen steriler Dextroselösung fliefsen, so zeigen sich nach 2 Stunden massenhaft Klostridien. Trotz fehlender Gelegenheit zur Entwicklung von Klostridien, ist die Neigung zur Entstehung solcher Formen durch 10 Kulturfolgen erhalten geblieben.

Setzt man hingegen gröfser Mengen (mehrere Prozent) milchsauren Kalk hinzu, so entstehen Ketten mit mittelständigen Sporen (s. Bd. 48, T. IV, Nr. 19).

Es ist uns aber, um dies nochmals zu wiederholen, niemals gelungen, aus diesen gärenden Kolben aerobwachsende Rauschbrandkulturen zu erzielen.

Eine kurze Überlegung und Berücksichtigung der in der Literatur vorliegenden Erfahrungen läfst überhaupt vermuten, dafs gerade solche Zustände, wie sie sich bei lebhafter Gärung entwickeln, wobei in den hier in Betracht kommenden Fällen die Empfindlichkeit gegenüber dem freien Sauerstoff gesteigert

[1]) Beyerinck hat schon 1893 in seiner Arbeit über das Butylferment auf derartige Leptothrixformen von Buttersäurebakterien aufmerksam gemacht.

wird, kaum geeignet sind, zur Aerobiose überzuleiten. Man hat im Gegenteil alles zu versuchen, um energischere Gärung zu vermeiden. Weiters ist zu berücksichtigen, dafs in vielen Fällen, die mit dem Fortschreiten des Alterns der Kultur sich geltend machenden Verhältnisse — vielleicht die sich ansammelnden Zersetzungsprodukte — zu einer Schwächung der Individuen führen, welche sich — viele im früheren angeführten Beispiele belegen dies — im Sinne einer gesteigerten Empfindlichkeit bei Übertragung in neuen Nährböden äufsern.

Ein Weg, der anscheinend mit Erfolg bei einigen anaeroben Bakterienarten betreten wurde, besteht darin, dafs man die Bakterien allmählich an gröfsere Sauerstoffspannung gewöhnt. Derartige gelungene Versuche liegen für den Tetanusbazillus vor, auch beim Rauschbrandbazillus ist behauptet worden, dafs lang fortgezüchtete Laboratoriumskulturen allmählich weniger empfindlich gegenüber dem Sauerstoff werden.

Es scheint, dafs hier unter Umständen eine von Haus aus bestehende geringere Empfindlichkeit mancher frisch isolierter Bakterienrassen vorliegt. Allerdings sind die hier vorliegenden Verhältnisse noch wenig systematisch untersucht, — ich will nur anführen, dafs nach einer Literaturangabe Belfanti die Umzüchtung des Tetanusbazillus in eine aerobe Bakterienart unter Auftreten der sonderbarsten Formveränderungen beobachtet hat.

Da mir bisher die betr. Originalarbeit nicht zugänglich war, und ich mich anderseits mit entsprechenden Versuchen am Tetanusbazillus nicht beschäftigt habe, bin ich nicht imstande zu äufsern, ob die von einzelnen Autoren stark angezweifelten Befunde stichhaltig sind oder auf Täuschung beruhen. Es sei hier bemerkt, dafs bei einer anderen Gelegenheit eine kritische Übersicht über die Angaben der Literatur, soweit sie das vorliegende Thema betreffen, gegeben werden wird.

Ich kehre nun zu eigenen Versuchen, am Rauschbrandbazillus angestellt, zurück.

Meine Versuche begannen zunächst damit, stark sporulierende, hochvirulente, frisch aus Tiermaterial gezüchtete Stämme zu Ober-

flächenwachstum auf Agar zu bringen. Es ist nun keineswegs leicht, unter diesen Verhältnissen Spuren von Sauerstoff zu entfernen, bzw. fernzuhalten.

Gerade die Empfindlichkeit solcher Rassen gegenüber dem freien Sauerstoff ist aber eine ganz exorbitante. Man erlebt bei den Versuchen, diese Organismen auf der Oberfläche zum ausgiebigeren Wachstum zu bringen, sehr auffallende Befunde, die man, wie ich jetzt glaube, doch mit Recht auf den schädigenden Einflufs von Spuren freien Sauerstoffs zurückführen darf.

Ich verweise zunächst auf ein derartiges Bild einer 24 Stunden alten Kultur auf Schrägagar (s. Bd. 48, T. XI, Nr. 68 u. 69).

Man zweifelt bei diesem Anblick fast daran, dafs es sich um eine Reinkultur handelt. Kaum eine Zelle gleicht der anderen. Jede Zelle scheint ein Individuum zu sein, die glänzende Spore ist bald übertrieben grofs, bald winzig klein.

Bei genauerem Zusehen sieht man aber, dafs es sich nicht um Individuen handelt, sondern um Karikaturen, um verunglückte sporulierende Stäbchen. Das Auftreten von Karikaturen ist aber der sicherste Beweis einer mifslungenen Anpassung. Die Jodreaktion zeigt uns sofort, dafs in der Tat gerade die am meisten von der Norm abweichenden Zellen am stärksten mit Granulose beladen sind (s. auch Bd. 48, T. XI, Nr. 67 u. T. IV, Nr. 41, 42, sowie den zugehörenden Text).

In den vorerwähnten Beispielen sahen wir eine Anzahl von Bildern, die uns Mifserfolge bei dem Versuche vorführen, unsere Stäbchen dem Oberflächenwachstum anzupassen.

Ich wählte nun eine Versuchsanordnung, bei welcher trotz Oberflächenwachstum die Luft in der denkbar exaktesten Weise von den Kulturen ferngehalten wird.

Die Nährböden (Agar) werden über der freien Flamme lange ausgekocht, rasch abgekühlt, es wird ausgesät und sofort erstarren gelassen. Die Schalen werden augenblicklich in die von Schattenfroh und mir modifizierte Botkinsche Glocke gebracht und der Raum durch einen starken Strom von H rasch ausgefegt, wobei dafür gesorgt wird, dafs die Reinigung des H. so weit geht, dafs eine Vorlage, die alkalische Pyrogallollösung enthält,

nicht gebräunt wird. Unter diesen Umständen entwickeln sich nach Durchbruch der Kolonien an die Oberfläche der Gallerte zarte Rasen, die gut färbbare Stäbchen enthalten. Wir entnehmen die Schalen dem Apparat erst nach 48 Stunden, wobei für absolute Fernhaltung von O-Zutritt Vorsorge getroffen ist. Übertragen wir nun von den am weitesten vorgerückten Randpartien auf Schrägagar, so sehen wir auf diesem Nährboden, obwohl unter gewöhnlichen aeroben Verhältnissen gehalten, nach 24 Stunden auf der Oberfläche sehr zarte Tautropfenkolonien. Das mikroskopische Präparat zeigt bewegliche Stäbchen (s. Fig. 1 der vorl. Arbeit). Im Kondenswasser der senkrecht gestellten Röhrchen zeigen sich Gasblasen. Wir haben somit mit einem Schlage den Rauschbrandbazillus zu aerobem Wachstum befähigt. Durch strengste Anaerobiose und Oberflächenwachstum sind unsere Stäbchen fakultativ aerob geworden. Wie ist dies zu erklären? Hier ist von einer Angewöhnung nicht die Rede, viel eher von einer Heilung. Wir haben, indem wir den Sauerstoff durch eine Anzahl von Generationen (48 Std.) diesen überaus empfindlichen Mikroorganismen ferngehalten haben, ihre Empfindlichkeit vererbbar herabgesetzt.

Diese primäre aerobe Form schlägt in Agarstich oder Zuckeragarstich übertragen zurück in anaerobe Zustände. Es tritt sofort wieder Versporung ein, die bei dem Oberflächenwachstum ausblieb. Es entstehen schliefslich Stäbchen mit Köpfchensporen und vereinzelt dicke Stäbchen mit mittelständigen Sporen.

Die aeroben Kolonien bleiben in ihrem Wachstum beschränkt, nach 48 Stunden treten Scheinfäden auf, dann sistiert das Wachstum.

Es war nun zu untersuchen, ob sich nicht durch geeignete Züchtung auch eine unbewegliche aerobe Form des Rauschbrandbazillus gewinnen läfst. Dies gelingt in der Tat. Und zwar auf folgende Weise. Wir übertragen von solchen aeroben Kolonien auf Schräggelatine und züchten bei 22°. Das ist ein schwerer Eingriff, schroffer Nährbodenwechsel und Temperaturwechsel. Die Vegetation geht sehr langsam an. Nach 48 Stunden zeigt sich am Stich ein zarter Belag. Die Kulturen

nehmen aber tagelang an Üppigkeit zu. Bald treten diffus oder vereinzelt feinste büschelförmige Ausläufer aus, die aus Scheinfäden bestehen (vgl. Bd. 48, T. X, Nr. 62).

Impfen wir nun von solchen Gelatinekulturen neuerlich auf Schrägagar und züchten wieder bei höherer Temperatur, so wird die Neigung zum Auftreten von Scheinfäden beibehalten.

Darin besteht das Wesen der zum Fortschnitt neigenden Bakterien, dafs sie die in der Kultur erworbenen Eigenschaften (z. B. Scheinfäden) unter Umständen bei Neuübertragung beibehalten und nicht rückschlagen wie viele andere Bakterien, die zwar auch in alten Kulturen Fäden bilden, bei Neuübertragungen aber in einfache Stäbchen rückschlagen.

Die früher scharfrandigen, glashellen aeroben Kolonien senden zopfig gewundene Ausläufer aus und gewinnen nach 48 Stunden das Aussehen von Kolonien aus der Milzbrandgruppe (s. Fig. 5 dieser Arbeit).

Im Kondenswasser hingegen entwickeln sich schleimig-fadenziehende krümmelige Massen.

Das mikroskopische Bild ist höchst charakteristisch (s. Fig. 6 u. 10 dieser Arbeit).

Der Rauschbrandbazillus sucht eine neue Form. Fast scheint es, als wollte er sich an der heute bei den niederen Organismen herrschenden Mode, Kunstformen zu versuchen, beteiligen, er bildet Schnörkel. Es handelt sich hier um eine schleimige Degeneration der Bewegungsorgane. Die Organismen bekommen oft Kapseln. Man beobachtet partiellen Verlust der Geifseln, asymmetrischen Bau des Plasmas und Aufdrehung der Leibessubstanzen. Das ist jedoch nur ein Übergangszustand.

Man sieht in Fig. 10 neben den Schnörkeln schon wieder einfache Linien, lange Ketten von plumpen Stäbchen mit abgestutzten Enden, Bilder, die in der Tat an Präparate aus Milzbrandagarkulturen erinnern.

Diese Ketten sind vollkommen unbeweglich, es tritt im Extrem ein Verlust der Geifseln auf.

Derartige Kolonien lassen sich nun bei Erhaltung der charakteristischen Formen auf Schrägagar unbegrenzt weiterübertragen.

Die Ähnlichkeit mit den Kolonien des Milzbrandbazillus ist aber nur eine beschränkte.

Die Vegetationen sind zwar ebenso fadenziehend, sie erreichen aber stets nur eine mäfsige Üppigkeit, sie werden niemals konfluierend, es werden niemals mittelständige Sporen gebildet, und was das wesentliche ist, sie schlagen bei geeigneter Behandlung in frühere Zustände zurück.[1])

Schon Präparate aus dem Kondenswasser, in welchen sich fadenziehende Krümmel entwickeln, zeigen den Rückschlag zur beweglichen Form, sie enthalten lange Konvolute von Schnörkeln. Die Organismen kehren aber prompt in die endständig sporulierende anaerobe Form zurück, wenn wir sie auf Agarstich übertragen und aerob aufbewahren. Nach 24 Stunden zeigen sich zartere Fäden und Ketten (s. Fig. 9), nach 48 Stunden erfolgt Zerfall in Stäbchen (s. Fig. 7). Mit Auftreten der endständigen Sporenanlage bei nochmaliger Übertragung auf Agarstich zarte Stäbchen (Fig. 4) oder Köpfchen-Sporen (in Bouillon Fig. 2), von hier oder von Agarstich zurück sofort wieder Schnörkel und Milzbrandformen.

Diese Kulturen sind derart empfindlich gegen wechselnde Reize, dafs sie sich in vorzüglicher Weise zur Anstellung von züchterischen Experimenten eignen. Es ist keineswegs für sie gleichgültig, ob der Agar trocken oder feucht ist, ob man die Röhrchen legt oder stellt, ob man Kolonien überträgt, die nahe dem Kondenswasser, oder am oberen Rande sitzen. Man kann diese Organismen, durch abwechselnde Folge von Agarstich und Strich zwischen Anpassung und Rückschlag hin und her jagen,

[1]) Bei Untersuchung einer gröfseren Zahl von Rauschbrandstämmen verschiedener Provenienz ergaben sich Verschiedenheiten hinsichtlich der mehr oder minder ausgesprochenen Schnörkelbildung der Üppigkeit der aeroben Kolonien etc. während des Übergangs der verschiedenen Zustände. Die genaueren Details sowie die Beziehungen dieser Übergangszustände zu den Spirillen und Kapselbakterien folgen in einer späteren Arbeit.

man kann sie einmal dünn und beweglich, dann dick und unbeweglich machen, in Ketten und Fäden, dann als einzelne Stäbchen erscheinen lassen, man kann sie am Übergang sich in Schnörkeln winden lassen und durch rechtzeitige Unterbrechung der wiedererscheinenden Sporulation zum Abwerfen der Sporenanlagen (s. Fig. 3) zwingen oder sie derart beeinflussen, dafs sie zwischen Rückschlag und Fortschritt zweifelnd monströse Gebilde entwickeln (s. Fig. 8), wobei wir nach Art unserer Züchter vorgehen, die mit Liebe und Grausamkeit ihre nützlichen Karrikaturen ziehen.

Meine Studien über das Verhalten dieser verschiedenen Zustände gegenüber spezifisch-agglutinierenden Seris sind noch nicht abgeschlossen, wohl aber kann ich auf eine andere biochemische Tatsache hin weisen. Als differential-diagnostisch wichtiges Mittel dient zur Untersuchung von Bakterienarten die Grammfärbung.

Hier zeigt sich nun, dafs die einen Formen gramnegativ sind, während die anderen, oft die Schnörkel und Ketten, relativ gramfest sind. An einem und demselben Faden läfst sich bei Übergangskulturen streckenweise das differente Verhalten gegenüber der Grammfärbung verfolgen.

Sind die bisher mitgeteilten Befunde geeignet, die Annahme einer näheren Verwandtschaft zwischen Milzbrandbazillus und Rauschbrandbazillus zu begründen? Sind wir mit einem Worte berechtigt, diese beiden anscheinend so grundverschiedenen Bakterienarten als verwandt zu bezeichnen? Ich habe bereits darauf hingewiesen, dafs die Ähnlichkeit, morphologisch betrachtet, eine beschränkte ist.

Versuche, den Milzbrandbazillus dem Rauschbrandbazillus zu nähern sind mir bisher nur bis zum Auftreten von Schnörkeln gelungen (welche Wuchsform ja bereits bekannt ist). Weiter will er nicht. Man kann am Ende einwenden, unter Hinweis auf die bekannte Neigung des Rauschbrandbazillus zur Bildung von Karikaturen, dafs es sich um eine rein äufserliche Ähnlichkeit handelt, hervorgerufen durch züchterische Mifshandlung unter unnatürlichen Bedingungen. Ja, aber vielleicht ist auch der

Milzbrandbazillus in seinen vorschriftsmäfsigen Formen nur eine Karikatur, der unbewegliche Zustand eines beweglichen Stäbchens (derartige bewegliche milzbrandähnliche Stäbchen sind bekanntlich im Boden verbreitet). Darüber kann kein Zweifel bestehen, die Natur versteht das Variieren noch viel besser als wir, und auch das Mifshandeln, speziell dort, wo es sich um Wechselwirkung zwischen verschiedenen Organismen dreht.

Wir sind heute nicht sicher, ob nicht gut beschriebene asporogene, unbewegliche Stäbchen, die wir mit der Nahrung aufnehmen, als anders geartete, sporogene, bewegliche Bakterien den Darm verlassen oder umgekehrt.

Ich will auch ganz kurz die Frage der Virulenz bzw. Pathogenität streifen. Gelingt es etwa in diesem Sinne, den Rauschbrandbazillus in den Milzbrandbazillus umzuwandeln? Davon ist nicht die Rede. Die einmal an unsere Nährböden so weit angepafsten, durch Umzüchten veränderten Organismen sind ebenso, wie die bei solchen Verhältnissen veränderten Milzbrandbazillen harmlos, avirulent. Bei den einschneidenden Veränderungen des Biochemismus ist der Verlust der Virulenz, dieser seltenen und hochangesehenen Eigenschaft, nicht zu verwundern.

Ich habe mich wiederholt bemüht, von der Vorstellung ausgehend, dafs es sich bei der Giftbildung der Bakterien um das Erscheinen abnormer Stoffe als Begleiterscheinung von ungeordneten Übergängen aus einem Biochemismus in einen anderen (z. B. Fäulnis in Gärung) handle, durch schroffen Nährbodenwechsel und wiederholte Züchtung unter Bedingungen, welche solchen Übergängen entsprechen, harmlose Bakterien virulent oder wenigstens giftig zu machen. Ich habe alle Mittel versucht, die Stäbchen aufzureizen. Alles vergeblich. Wir können die unseren Kulturen angepafsten harmlosen Bakterien nicht mehr virulent machen. Wir sind ja kaum imstande, abklingende Virulenz aufzuhalten, noch viel weniger Virulenz künstlich hervorzurufen. Dazu reichen offenbar unsere Mittel nicht aus. Es ist das Vorrecht der Natur, diese Zustände im Kampf ums Dasein zu erzeugen, und in ihrer Eigenart mehr minder dauernd festzuhalten, in dem Kampf ums

Dasein, in dem zwar in der Regel die schwächeren Individuen unterliegen, jedoch gelegentlich, wenn sich die Organismen gegenseitig vergiften, die schwächeren die stärkeren umbringen. Wie dem auch sei, die vorliegenden Erfahrungen berechtigen uns zu einer freieren Auffassung in bakteriologischen Dingen. Diese freiere Auffassung kann nicht darin bestehen, dafs wir sagen, dafs alle Bakterien gleich sind. Das wäre biologisch taktlos. Wir werden nach wie vor behaupten müssen, die Zustände dieser verschiedenen Bakterienarten sind streng spezifisch, doch ihre Träger sind vielleicht näher verwandt, als wir heute zugeben wollen. Wir müssen nur früh mit unserer variierenden Behandlung eingreifen, sobald wir sie aus der Natur bekommen, wo so häufig Übergangszustände vorkommen, und wir dürfen nicht hiermit warten, bis sie uns aus Králs Laboratorium in Prag zugeschickt werden.

Die Übergangszustände sind es also, die unser ganzes Interesse verdienen.

Die Natur ist nach einem berühmten Ausspruch alle Augenblicke am Ziele. Sie schiefst aber bekanntlich auch alle Augenblicke übers Ziel. Sehr oft, wenn sie am Ziele ist, zeigt sie sich in rätselhaft einfacher Form. Wenn sie aber ihr Ziel verläfst und zum Sprunge auf ein neues Ziel ansetzt, wenn sie sich selbst nicht ganz sicher fühlt und dies durch bizarre Formen verrät, dann können wir sie fassen. Daher mufs unsere Beobachtung an sicheren Formen beginnen, unser Experiment an Übergangszustände anschliefsen.

Gerade durch die in unserer Technik übliche und zum Teil berechtigte, etwas schablonenhafte Gleichheit der kulturellen Behandlung verschiedener Bakterien werden die Differenzen der Zustände recht markant und gut fixiert.

Ein Beispiel: Wir können, von einem Rauschbrandbazillus ausgehend, zehn verschiedene Zustände herstellen. Um diese zehn verschiedenen Zustände auf denselben Zustand zurückzuführen, müfsten wir sie alle verschieden behandeln.

Behandeln wir sie aber gleich, dann behandeln wir sie verschieden, denn dann wirken gleicher Nährboden und

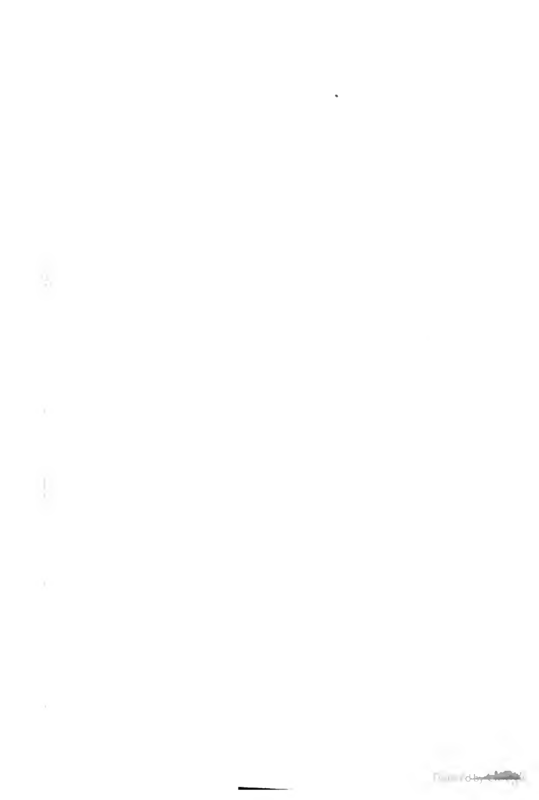
gleiche Bedingungen auf diese verschiedenen Zustände einer Bakterienart als ganz verschiedener Reiz, und wir treiben unter Umständen die Extreme noch mehr auseinander.

Ich bin am Schlusse. Durch die ganze Reihe der vorgeführten Bilder konnten wir den gestaltenden Einflufs des Fortschrittes erkennen, aber auch den der Krankheit. Die Unterscheidung zwischen beiden ist oft sehr schwierig zu treffen. Oft stehen wir zweifelnd und wissen nicht recht, sollen wir in einer Erscheinung einen Fortschritt oder eine Degeneration erblicken. Es geht uns eben auch hier ähnlich wie bei dem Studium der höheren Organismen. Wie dem auch sei, wir dürfen, wenn wir dem Zug der in der Entwicklung nach oben fortschreitenden Organismen folgen, neben dem gestaltenden Einflufs des Fortschritts nicht den karikierenden Einflufs der Krankheit übersehen. Die Krankheit begleitet den Zug, sie marschiert gleich der bekannten Person, bald vorne, lustig springend, die Schellenkappe schwingend, sich auf den Kopf stellend und Purzelbäume schlagend. Dann tritt sie, Grimassen schneidend, in die vorderste Reihe der Marschierenden ein. Jetzt schleicht sie erschöpft dem Zuge nach, hier verschwindet sie, dort taucht sie wieder auf. Sie begleitet den Zug, angefangen von den Stäbchen, den Runen der Natur.

Bemerkungen zu den Tafeln.

Die vorliegenden Photogramme geben ein Beispiel für den Formenkreis, wie er sich in einem speziellen näher studierten Fall des Übergangs vom Rauschbrandbazillus in den aeroben Zustand entwickelte.

Fig. 5 zeigt eine 40 fach vergröfserte Kolonie. Die übrigen Photogramme sind bei 1000 facher Vergröfserung aufgenommen. (Die Aufnahmen wurden von dem Verfasser im Privatlaboratorium des Universitätslehrers Herrn Hinterberger hergestellt.)



Grassberger: Ueber Anpassung und Vererbung bei Bakterien.

Fig.1.

Fig.2

Fig.3.

Fig.4.

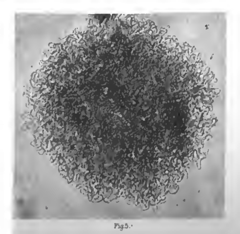


Fig.5.

Grassberger Ueber Anpassung und Vererbung bei Bakterien.



Fig 6

Fig 7

Fig 8

Fig 9

Fig 10

(31)

Beobachtungen am Blut mit Trypanosomen geimpfter Tiere.

Von

Dr. med. A. Nifsle.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

(Mit einer Tafel.)

Im folgenden soll eine Reihe von Befunden mitgeteilt und besprochen werden, die ich am Blut von Laboratoriumstieren festzustellen Gelegenheit hatte, welche mit Trypanosoma Brucei, Tr. equinum oder Tr. Lewisii infiziert waren. Ich beziehe mich dabei auf eine vorläufige Mitteilung der ersten Resultate dieser Untersuchungen, die im November vorigen Jahres in der hygienischen Rundschau erschienen ist.

Als Impftiere dienten weifse bzw. schwarzweifse Ratten (in der ersten Zeit ausschliefslich) und weifse Mäuse, soweit sie bei den betreffenden Trypanosomenarten in Betracht kamen; in letzter Zeit wurden auch Meerschweinchen mit Nagana- und Cadérasparasiten infiziert. Ersteres Virus stammte aus dem hiesigen Institut für Infektionskrankheiten (Togohengst), wo es sich als schwaches Gift insofern erwiesen hatte, als es grofse Tiere nicht tötete (Martini). Die Trypanosomen des Mal de Cadéras verdanke ich Herrn Geheimrat Ehrlich. Die Rattentrypanosomen wurden dem Blut einer hier frisch getöteten grauen Ratte entnommen.

Als Mikroskop diente Zeifs Ia mit Kreuztisch, den Objektiven AA, DD und Ölimmersion $^{1}/_{12}$, sowie den Okularen 2 und 4. Als Lichtquelle benutzte ich bei allen feineren Untersuchungen den Auerbrenner, mit dessen Hilfe sich Konturen und Farbenunterschiede in vielen Fällen weit genauer feststellen liefsen, als selbst bei hellem Tageslicht.

Die Herstellung der Blutausstriche geschah nur auf Objektträgern und zwar nach dem Verfahren von Jansco und Rosenberger; die Präparate wurden in Alkohol absolutus fixiert und nach Giemsas älterer Methode gefärbt. Wo die Anwendung anderer Arten der Fixierung und Färbung der Kontrolle halber herangezogen werden mufste, sollen diese besonders erwähnt werden.

Ihren Ausgang nahmen meine Untersuchungen von der bekannten Erfahrung, dafs bei der von Neal und Novy angegebenen Züchtung von Trypanosomen auf künstlichen Nährböden jede Verunreiuigung durch Bakterien zum schuellen Absterben der Kulturen führe und daher sorgfältig vermieden werden müsse. Ich wollte nun prüfen, ob auch innerhalb des Tierkörpers deu Trypauosomen diese Empfindlichkeit Bakterien gegenüber zukäme, und wählte dazu den Prodigiosus, da er aus Blut und Organen leicht wieder zu züchten sein mufste, falls er überhaupt im Tierkörper am Leben blieb (die Bertarellische Arbeit war mir damals noch nicht bekannt). Kartoffelröhrchen wurden mit einem Farbstoff bildenden Institutsstamm beschickt und bei 22° aufbewahrt. Unter diesen Bedingungen entwickelte sich in 4—6 Tagen ein dicker, dunkelroter Belag. Einige Vorversuche mit Aufschwemmungen davon in 0,9 proz. Kochsalzlösung, die Ratten intraperitoneal injiziert wurden, erwiesen oiue enorme Toxizität dieser Kulturen und ferner die Möglichkeit, Farbstoff bildenden Prodigiosus aus dem Herzblut frisch verendeter Tiere wieder rein zu züchten.

Bei der Durchsicht der Literatur erfuhr ich nun aus dem eben erwähnten Aufsatz Bertarellis, der mit Prodigiosusbouillonkulturen an Meerschweinchen experimentierte, dafs auch sein Prodigiosns giftige Eigenschafteu gezeigt, dafs er sich im

Tierkörper vermehrt und ferner, dafs er die Fähigkeit besessen hatte, durch Beimischung mäfsiger Mengen zu Milzbrandinjektionen Tiere länger am Leben zu erhalten, als die nur mit Milzbrand geimpften Kontrolltiere. Dieser letzte Umstand veranlafste mich, die geplanten Versuche doch mit diesem Bakterium, wenn auch unter verändertem Gesichtspunkt, vorzunehmen.

Von der Verwendung von Mäusen als Impftieren wurde Abstand genommen, da die Dosierung des Prodigiosus, ihrer geringen Widerstandsfähigkeit entsprechend, noch weit mehr Schwierigkeiten bot, als dies schon bei den ausgewachsenen Ratten der Fall war, die ausschliefslich für diese Versuche benutzt wurden.

Sobald in den subkutan mit Naganaparasiten geimpften Tieren eine einigermafsen reichliche Trypanosomenansammlung erzielt war, die der Zahl nach etwa dem zweiten Tage vor dem Tode bei den Kontrolltieren entsprach, wurden ihnen Aufschwemmungen der 4—6 Tage alten Prodigiosuskulturen intraperitoneal injiziert. Dabei zeigte sich, dafs man unter diesen Bedingungen meist nicht über eine Dosis von $^1/_{20}$ Öse hinausgehen durfte; kam es doch vor, dafs auch bei dieser Menge die Tiere innerhalb kurzer Zeit verendeten, zuweilen schon nach $^1/_4$ Stunde. Bei einer der Ratten, die die Injektion gut vertragen hatte und auch am nächsten Tage trotz der weiter vermehrten, jetzt sehr reichlichen Trypanosomen einen verhältnismäfsig munteren Eindruck machte, konnte ich nun am Morgen darauf (45 Stunden nach der Injektion) das Verschwinden der Flagellaten bis auf ganz spärliche Exemplare konstatieren; das Blut sah heller als vorher aus, auch war die Zahl der roten Blutkörperchen deutlich vermindert. In gefärbten Ausstrichpräparaten fiel die grofse Menge polychromatophiler Erythrozyten, meist zugleich Megalozyten, auf, die die normalen Blutkörperchen oft um das Vier- bis Fünffache überragten; die Mehrzahl zeigte ziemlich dunkle blaurote Färbung, der kleinere Teil war heller tingiert. Schon bei mittlerer Vergröfserung waren in vielen dieser polychromatophilen Blutkörperchen Anhäufungen chromatinroter Elemente sichtbar, während die orthochromatischen Erythrozyten

nichts Abnormes erkennen liefsen. Bei der genaueren Untersuchung dieser Präparate gelang es mir, einen dunkel gefärbten Megalozyten anzutreffen, in dem deutlich die Konturen eines geifsellosen Trypanosomas mit etwas blassem Kern, aber leuchtendroter Geifselwurzel (Zentrosom) erkennbar waren; der Körper lag in Hufeisenform, die Plasmaenden waren zugespitzt. Fig. 1 stellt einen solchen Befund dar, nur sind in diesem Falle die Plasmaenden abgerundet, so dafs das Gebilde mehr Wurstform angenommen hat. Die Wiedergabe der ersten Beobachtung war mir aus äufseren Gründen leider nicht mehr möglich.

Ähnliche hufeisenförmige Gebilde wurden in diesen Präparaten gar nicht so selten angetroffen, doch waren bei ihnen die Konturen nicht so scharf und ein Kern, oft auch eine Geifselwurzel nicht deutlich sichtbar; es konnte dann nur aufserhalb des Hufeisens und zwar in seiner Konkavität eine gröfsere oder kleinere Menge roter Körnchen nachgewiesen werden. Unter diesen Körnchen, deren Mehrzahl unregelmäfsige Form, Zahl und Anordnung zeigten, befanden sich nun oft an ein oder zwei Stellen paarweis aneinandergelagerte, punktförmige Elemente von $^1/_5$—$^1/_3$ μ Gröfse, die Ähnlichkeit mit Diplokokken oder den in Teilung begriffenen Geifselwurzeln eines Trypanosomas hatten. Sie fanden sich jedoch auch in solchen polychromatophilen Erythrozyten, die aufser ihnen nur noch unregelmäfsige rote Körnchen oder gar nichts Besonderes aufwiesen. Diese selben Gebilde konnte ich im Blut aller Ratten feststellen, bei denen es gelungen war, eine Naganainfektion durch den Prodigiosus günstig zu beeinflussen, doch auch schon auf der Höhe der Infektion, wenn auch in geringerer Zahl. Ferner fand ich die Körperchen bei wilden und zahmen Ratten, die in der Freiheit resp. künstlich mit Tr. Lewisii infiziert waren und entweder zahlreiche Flagellaten aufwiesen oder in der Heilung begriffen waren. Auch graue Ratten, die keine Trypanosomen enthielten, aber von Orten stammten, wo Tr. Lewisii angetroffen worden war, zeigten, allerdings meist ziemlich spärlich, diese Doppelkörnchen, während ich sie bei ungeimpften zahmen Tieren nicht gefunden hatte. Angesichts dieser Resultate hielt ich vor-

behaltlich weiterer sicherstellender Beweise die Vermutung für berechtigt, dafs es sich hier um Formen handle, die Latenzzustände des Trypanosomas darstellen.

Bestärkt wurde ich in dieser Auffassung, als ich bei frischen Präparaten von geeignetem Blut in vereinzelten Megalozyten, allerdings weit seltener als im entsprechenden gefärbten Ausstrich, ebenso geformte Gebilde bemerkte, welche sich durch einen etwas dunkleren Farbenton vom Hämoglobin abhoben und imstande waren wackelnde Bewegungen auszuführen, durch die sie in einem kontrollierten Falle in 5 Minuten von einem Pol des Blutkörperchens zum andern gelangten; die Lage der Doppelkörperchen zueinander blieb dabei unverändert, sie bewegten sich also wie ein kurzes Stäbchen.

Die Vermutung, dafs diese Gebilde, bei denen das Gesetzmäfsige ihrer Form, ihrer Anordnung und ihrer Zahl jeden Verdacht auf Zerfallsprodukte von vornherein auszuschliefsen geeignet war, Latenzstadien von Trypanosomen darstellten, hat sich nun nicht aufrechterhalten lassen. Denn bei weiteren Durchmusterungen von Blutausstrichen nicht geimpfter, ausgewachsener, zahmer Ratten gelang es mir doch in ganz vereinzelten polychromatischen Erythrozyten dieselben diplokokkenartigen Formen aufzufinden, namentlich als ich im Laufe der Zeit die Erfahrung gemacht hatte, dafs ich sie in manchen Fällen erst dann nachweisen konnte, wenn ich die Präparate bei täglich erneuerter Giemsamischung mehrere Tage liegen liefs; trotz der störenden reichlichen braunen Farbniederschläge waren dadurch oft die roten Körnchen einwandsfrei festzustellen, die bei kürzerer Färbung noch nicht sichtbar gewesen waren.

Als ich später begann, auch an anderen Tieren zu experimentieren, zeigte sich, dafs diese Gebilde bei ungeimpften Mäusen oft weit häufiger angetroffen wurden. Ferner fand ich sie im Blut gesunder Meerschweinchen und Kaninchen, eines unter bronchopneumonischen Erscheinungen erkrankten Hundes, während sie sich bei einem gesunden Hunde und mehreren gesunden Rindern nicht feststellen liefsen. Ebenso habe ich sie im gesunden menschlichen Blut bisher niemals auffinden können,

dagegen in einigen Ausstrichen von fiebernden Kranken, auch hier überall nur in polychromatischen Blutkörperchen.

Nachdem sich das Vorhandensein der eigentümlichen Doppelkörnchen nicht als spezifisch für Trypanosomenerkrankungen erwiesen hat, halte ich es für berechtigt, vorläufig nur diejenigen Bilder als beweisend für das Einwandern von Trypanosomen in Erythrozyten anzusehen, wo sich innerhalb derselben noch ein abgegrenzter Plasmakörper mit Kern bzw. Kernrest und Geifselwurzel unterscheiden läfst (Fig. 1). Da meine erste derartige Beobachtung das Blut eines Tieres betraf, bei dem ein sehr reichlicher Parasitengehalt in verhältnismäfsig kurzer Zeit bis auf den Rest spärlicher Flagellaten beseitigt worden war, die Behandlung mit Prodigiosusinjektionen, wie schon oben erwähnt, wegen der schwierigen Dosierung viele Mifserfolge mit sich brachte — geringere Dosen wie die angegebenen wirkten wiederum gar nicht, — so ging ich dazu über, die Behandlung cadéraskranker Mäuse mittels Trypanrot, wie sie von Ehrlich und Shiga angegeben worden ist, für meine Zwecke auszunutzen. Virus und Farbstoff verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Geheimrats Ehrlich.

Der in Fig. 1 abgebildete Befund ist mit dieser Methode gewonnen. Immerhin blieben trotz der Durchmusterung zahlreicher Ausstriche Bilder, die die oben angegebenen Bedingungen erfüllten, ein überaus seltenes Vorkommnis. Eventuell sind die Chancen bei gröfseren Tieren günstiger, da dort eine hochgradige Infektion weit länger einwirken kann, ohne dafs Remissionen ausgeschlossen sind.

Was bedeuten nun die kleinen, stets paarweise angeordneten Körperchen? Ich habe schon darauf hingewiesen, dafs eine Erklärung derselben als Zerfallsprodukte nicht in Frage käme, da deren Genese schon den Begriff des Unregelmäfsigen in sich berge. Von wirklichen Zerfallsprodukten trifft man solche, die gleichfalls das Chromatinrot annehmen, auch häufig gerade in den polychromatophilen Blutkörperchen an; in besonders starkem Mafse ist dies bei denjenigen trypanosomiasiskranken Tieren der Fall, wo nach hochgradiger Infektion die Zahl der Flagellaten

in verhältnismäfsig kurzer Zeit zurückgegangen ist. Dabei zeichnen sich unter den polychromatophilen Blutkörperchen im allgemeinen wieder die Megalozyten durch besonderen Reichtum an solchen unregelmäfsigen, meist mehr im Zentrum gelegenen Körnchen aus. Dieselben stellen die Reste des in Zerfall bzw. Auflösung begriffenen Kerns dar. Bei aufmerksamer Betrachtung wird man auch unter diesen Körnchen häufig genug die diplokokkenähnlichen Gebilde herauserkennen; sie sind stets durch dunkleren Farbenton den Kernresten gegenüber ausgezeichnet. Es sei bemerkt, dafs sie in solchen »akuten« Fällen meist gröfser erscheinen (zuweilen $^1/_2$ μ grofs) als bei ungeimpften Tieren, wo sie manchmal kaum $^1/_5$ μ erreichen und nur vermöge der leuchtenden Kontrastfärbung hervortreten (vergl. Fig. 2 und 3). Ferner sei hervorgehoben, dafs man gerade unter den genannten Bedingungen ziemlich oft einen Zwischenraum zwischen den beiden Pünktchen wahrnehmen kann, der zuweilen durch ein gerades oder bogenförmig gespanntes Fädchen überbrückt wird.

Die Lage der Doppelkörnchen in der Blutscheibe ist keine konstante; sie werden bald mehr zentral, bald mehr peripher angetroffen; es scheint, als ob letzteres häufiger wäre.

Zum Vergleich herangezogene Methoden haben ergeben, dafs sie einerseits ebensogut hervortreten bei Fixierung durch die von Ehrlich zuerst empfohlene Erhitzung der Ausstriche wie bei der Argutinskyschen Osmiumfixierung. Von anderen Färbungen wurden Karbolthionin und Heidenhainsches Eisenhämatoxilin, beide mit positivem Erfolg, angewandt, wenn auch keine so scharfen Kontraste zu erzielen waren. Der Polychromasie entsprach bei Thioninfärbung eine deutliche Metachromasie.

Ich bemerke noch, dafs bei Hitze- und Osmiumfixierung Kernzerfallsreste in den Blutkörperchen viel zahlreicher sichtbar werden als bei der Fixierung mit Alkohol absolutus. Ich möchte deshalb der Vermutung Raum geben, dafs bei den beiden ersteren Behandlungsmethoden auch ein Teil der nukleoiden Substanz, wie Lavdowsky nach seinen Versuchen eine in den meisten Blutkörperchen enthaltene, aus dem Kern hervorgegangene, mit

ihm chemisch aber nicht mehr identische Substanz nennt, zur Farbstoffaufnahme befähigt wird.

Um die Doppelkörperchen läfst sich bei Alkoholfixierung fast immer ein bald schmälerer, bald breiterer heller Hof abgrenzen, der zuweilen zipfelartig ausgezogen erscheint, meist aber mehr Kreis- oder Ellipsenform zeigt. Da dieser Hof bei Hitze- und Osmiumfixierung niemals so deutlich erkennbar ist, so kann der Verdacht nicht ganz von der Hand gewiesen werden, dafs er eventuell nur ein Artefakt darstellt.

Auch für die Identität der Doppelkörperchen mit den in frischem Blut beobachteten, gleichgestalteten Gebilden ist insofern ein exakter Beweis noch nicht erbracht, als sie dort weit seltener gesehen wurden als im gefärbten Präparat; allerdings erklärt sich dies zum Teil dadurch, dafs fast nur Megalozyten in Betracht gezogen werden konnten, da ja die meisten Normozyten zu bald durch Übergang zur Stechapfelform ein weiteres Studium von Details unmöglich machen.

Th. Smith beschreibt intraglobuläre Körperchen, die er im frischen Blut kranker und gesunder Rinder gefunden hat; sie sollen meist einzeln, manchmal auch zu zweien vorkommen, im Maximum 0,5 μ grofs und imstande sein, zitternde Bewegungen auszuführen. Smith hielt sie für jüngste Stadien des Texasfieberparasiten. Nach Celli und Santori hat Marchiafava bereits dieselben Formen im Malariablut beobachtet; sie selbst wollen sie u. a. im Blut gesunder Meerschweinchen gesehen haben. Im frischen Rinderblut konnte ich gleichfalls kokkenartige Elemente wahrnehmen, die einzeln oder zu zweien im Erythrozyten vorhanden waren und sich zeitweise bewegten, sie zeigten aber stärkeres Lichtbrechungsvermögen als die oben beschriebenen, und ebenso konnte ich konstatieren, worauf schon Smith hingewiesen hatte, dafs sie sich nicht färben liefsen.

Auch die von Schmauch in den roten Blutkörperchen der Katze entdeckten Elemente, die er für Kernreste hält, und deren Auftreten er auf die toxischen Stoffwechselprodukte von Darmparasiten zurückführt, kommen hier nicht in Betracht, da ihre Form und Zahl nichts so Charakteristisches zeigt.

Bei Präparaten, die mit einer besonderen Fixierungsmethode behandelt waren (Osmium-Pikrinsäure) hatte Petrone in Säugetiererythrozyten Körperchen von körniger Struktur gefunden, die er als Kern angesehen hatte; diese Hypothese war von Negri dadurch widerlegt worden, dafs er sie auch in Erythroblasten neben dem Kern nachgewiesen hatte. Da es sich um Gebilde handelt, die einzeln auftreten, und da ihre Gröfse die der oben beschriebenen bedeutend übertrifft, so können auch sie nicht zur Erklärung herangezogen werden.

Ehrlich fand bei Prüfung von Blutgiften an Mäusen in einem Teil, manchmal in den meisten Blutscheiben ein, zwei oder drei kuglige Gebilde, die er hämoglobinämische Innenkörper nennt, und die er für Degenerationsprodukte hält. Der Umstand, dafs gerade Mäuse als Versuchstiere benutzt wurden, die auch unter normalen Verhältnissen oft relativ viele der eigentümlichen Doppelkörperchen enthalten, ferner das Unbestimmte der Anzahl der hämoglobinämischen Innenkörper, sowie das Fehlen jedes Hinweises auf ihr Vorkommen in bestimmten Arten der Blutkörperchen, müssen die Identität auch dieser Formen ausschliefsen.

Nun hat Dehler 1895 Untersuchungen über die roten Blutkörperchen von wenige Tage alten Hühnerembryonen angestellt (Schnittmaterial, Sublimatfixierung, Färbung mit Eisenhämatoxilin nach Heidenhain) und dabei konstant unmittelbar neben dem Kern Zentrosomen nachweisen können. Dieselben sind stets in beschränkter Zahl vorhanden und zwar scheint nach den vorzüglichen beigegebenen Zeichnungen die Zahl 2 vorzuherrschen; darauf deutet auch die Tatsache, dafs beim Vorhandensein von dreien das dritte bedeutend kleiner und nach Dehler als Nebenkörperchen aufzufassen ist. Die Gröfse der Zentrosomen beträgt $^1/_4$—$^1/_3$ μ; umgeben sind sie meist von einem hellen Hof von etwa 2 μ Durchmesser. Vereinzelt werden auch Verbindungen zwischen zwei Körperchen beobachtet: »Fälle, in denen man auch an gut differenzierten Präparaten eine Verbindung von zwei in der Schnittebene liegenden Zentralkörpern durch eine schmale, dunkelgefärbte Zwischensubstanz findet, sind selten (primäre Zentrodesmose von M. Heidenhain).«

Die Ähnlichkeit dieser Gebilde mit den in polychromatophilen Erythrozyten von Säugetieren beobachteten ist eine aufserordentlich frappante; rechnet man dazu, dafs auch die Erklärung der letzteren als Zerfalls- oder Kunstprodukte jeder Wahrscheinlichkeit entbehrt, dafs es sich vielmehr ebenfalls um morphologisch präzisierte Gebilde handelt, so kann meines Erachtens kein Zweifel obwalten, dafs sie wirklich die erhalten gebliebenen Zentrosomen von Erythroblasten darstellen, zumal sie gerade häufig in solchen Blutkörperchen angetroffen werden, wo noch Reste des zerfallenen Kerns nachweisbar sind.

Darauf, dafs die relative Widerstandsfähigkeit der Zentrosomen bei der Kernnekrose allgemeiner begründet ist, deuten die bekannten Befunde von Resten in ihrem natürlichen Medium zugrundegegangener Flagellaten, z. B. Trypanosomen oder Lamblia intest., wo die mit den Fufspunkten bzw. Zentrosomen in Verbindung gebliebenen Geifseln diese beim Mangel jeglichen Kerns und Plasmas noch als solche feststellen lassen und damit verraten, dafs sie morphologisch und tinktoriell noch unverändert erhalten geblieben sind. Ja, ich habe in einem frischen Trypanosomenpräparat eine Geifsel sich in der Art der vollständigen Trypanosomen fortbewegen sehen, der neben dem Zentrosom nur noch ein spärlicher Plasmarest anhaftete. Wenn auch die Intensität der Bewegungen allmählich abnahm, so dauerte es doch 10 Minuten, ehe sie vollkommen aufgehört hatten. (Die unmittelbare Bedeutung des Kerns für die Funktion der Geifsel erscheint also hier in ähnlicher Weise ausgeschlossen, wie dies bei den Haaren der Flimmerepithelien der Fall ist, da für deren Funktion in erster Linie auch nur die Integrität ihrer Basalkörperchen und ihr Zusammenhang mit ihnen erforderlich ist).

Nun ist von Bremer in jedem roten Blutkörperchen der Vögel und niederen Wirbeltiere ein Gebilde beobachtet worden, das er seiner Lage wegen Paranuklearkörperchen nennt. Er identifiziert es mit einem im Säugetierblut auch von ihm gefundenen Stigma genannten Pünktchen, anderseits erklärt er es auf Grund der Dehlerschen Befunde für das Zentrosom der

Blutzelle. Das Stigma beschreibt *Bremer* als *ein* winziges Kügelchen, das er besonders bei chronischen Nervenerkrankungen wahrgenommen haben will; beim Absterben des Blutkörperchens soll es deutlicher und gröfser werden. Nach diesen Angaben und nach der beigegebenen Zeichnung glaube ich unter Berücksichtigung meiner Befunde *nicht*, dafs eine Identifizierung des Stigmas mit den Zentrosomen der Blutkörperchen aufrechterhalten werden kann.

Bei der Bedeutung, die der weitere Ausbau der normalen und pathologischen Anatomie der Blutelemente für den Parasitologen besitzen mufs, mag hier noch ein eigentümliches Gebilde Erwähnung finden, das ich zuerst in polychromatophilen Erythrozyten von *Meerschweinchen* angetroffen habe, bei denen nach Anhäufung reichlicher Trypanosomen im Blut (Nagana und Cadéras) eine spontane Remission eingetreten war. Es handelt sich um scharf konturierte *Reifen*, die in der Peripherie des Blutkörperchens gelegen sind, bei Giemsafärbung intensiv rot und etwas dicker erscheinen als Trypanosomengeifseln. Ihr Durchmesser beträgt im Maximum etwa 8—10 μ. Meist ist an ein oder zwei Stellen der Reifen punktförmig verdickt. Im frischen Präparat habe ich dieses Gebilde bisher nicht auffinden können. Sind die Reifen so fixiert, dafs ihre Ebene senkrecht zu der des Objektträgers gelegen ist, so entsteht entweder das Bild einer langen Ellipse, oder, wenn sich die gegenüberliegenden Bögen schneiden, eine *Achtform* (Fig. 4); durch Verstellung der Mikrometerschraube kann man sich dabei leicht überzeugen, welche Hälfte oberhalb und welche unterhalb des Blutkörperchens sich befindet. In seltenen Fällen konnte ich eine Zerreifsung des sonst unveränderten Reifens konstatieren (Kunstprodukt?).

Wenn man Blutausstriche zu einer Zeit herstellt, wo die Remission der Trypanosomenerkrankung schon einige Tage bestanden hat, so trifft man häufig *kleinere* Reifen von etwa 4—5 μ Durchmesser, die sich entweder sonst durch nichts von den gröfseren unterscheiden oder zugleich *dünner* als diese und *weniger* intensiv gefärbt (mehr graurot) erscheinen; oft zeigen

solche dünne Reifen dann aufserdem einen mehr oder minder vorgeschrittenen körnigen Zerfall. Es fiel mir auf, dafs Blutscheiben, die degenerierte Reifen enthielten, nicht selten gleichzeitig basophile Körnung aufwiesen. Ob die körnig zerfallenden Reifen mit irgend welchen Fädchen oder kreisförmig angeordneten Elementen, wie man sie zuweilen, auch im Blut anderer Tiere beobachtet, identisch sind, mufs durch weitere Untersuchungen klargestellt werden.

In dem Blut der Meerschweinchen, bei denen ich diese Gebilde zuerst verhältnismäfsig häufig beobachtete (ca. in jedem 5. bis 6. Gesichtsfelde bei Immersion 1 Reifen), wurden sie bei länger bestehender Remission allmählich seltener. Bei Ratten und Mäusen habe ich sie niemals gesehen trotz der grofsen Zahl von Ausstrichen, die ich gerade vom Blut dieser beiden Tierarten durchmustert habe. Nur sehr vereinzelt traf ich sie im Blut normaler Meerschweinchen. Um so mehr war ich erstaunt, teils unveränderte, teils degenerierte Reifen in manchen Präparaten vom Blute fieberhaft erkrankter Menschen und zwar auch hier zuweilen gar nicht so selten vorzufinden; einzelne Reifen lagen vollkommen frei, bei anderen erkannte man noch das zugrundegehende zugehörige Blutkörperchen an der hellrötlich blauen Farbe. Ebenso zeigten auch die erhaltenen Erythrozyten, die Reifen einschlossen, meist deutliche Polychromasie.

In der Literatur habe ich nur an einer Stelle die Beschreibung von Blutkörperchen mit reifenartiger Einfassung vorgefunden und zwar in derselben oben zitierten Dehlerschen Arbeit, die sich mit den Untersuchungen an Blutzellen junger Hühnerembryonen befafst. Dehler, der am Schnittmaterial beobachtete, beschreibt das Gebilde als $^1/_4$—$^1/_2$ μ dicken, intensiv geschwärzten Saum (Färbung nach Heidenhain), der »als zum Protoplasma der Zelle gehöriger Reifen aufzufassen ist, in dem die Substanz der Zelle ausgespannt ist.« Der Reifen soll, sobald die Zelle eine gewisse Gröfse erreicht und sich zur Teilung anschickt, schwinden. Bei den jungen Zellen soll er, wenn sie aus der Kugelform zur bikonvexen Linsenform übergehen, sich wieder einstellen.

In der Literatur seit 1895 habe ich vergebens Notizen über Nachprüfung oder weitere Untersuchungen dieser gerade bei Metazoenzellen einzig dastehenden Erscheinung gesucht. Mögen deshalb meine Beobachtungen und das damit begründete praktische Interesse dazu beitragen, weitere vergleichend embryologische und pathologisch anatomische Studien über diesen Gegenstand anzuregen.

Sowohl die Zentrosomen wie die Dehlerschen Reifen stellen, wie ich schon hervorhob, Eigentümlichkeiten mancher polychromatophiler Erythrozyten dar. Auf die Polychromasie hat zuerst Ehrlich aufmerksam gemacht und sie anfangs für eine Alterserscheinung angesehen, da derartige Blutkörperchen häufig ausgesprochene Degeneration erkennen liefsen. Nachdem Gabritschewsky dem gegenüber durch seine Untersuchungen erwiesen hatte, dafs die polychromatophilen Erythrozyten vielmehr junge Formen darstellten, modifizierte Ehrlich seine Anschauung dahin, dafs er sie für von Jugend auf degenerierte Elemente erklärte.

Die Degenerationserscheinungen dokumentierten sich bei meinen Präparaten entweder in der Weise, dafs sich an den Blutkörperchen Einkerbungen zeigten, die ihnen bei tieferem Eindringen bisweilen Rosettenform gaben — ihr Farbenton war dann stets mehr dunkelblau —, oder dafs grofse, blasse, deshalb oft kaum erkennbare Gebilde in den Ausstrichen, manchmal in grofser Zahl, wahrgenommen werden konnten, die eine meist exzentrisch gelegene Vakuole von ziemlicher Ausdehnung erkennen liefsen und deshalb den Eindruck von rosa oder bläulichrosa gefärbten Halbmonden machten, zumal die dünnste Stelle der Vakuolenwand wirklich oft eingerissen war (Fig. 3). In manchen Halbmonden liefsen sich noch deutlich Zentrosomen nachweisen (Fig. 3 rechts).

Schon weiter oben hatte ich bemerkt, dafs polychromatophile Erythrozyten oft zugleich Megalozyten sind; in besonderem Mafse trifft dies bei hochgradigen Trypanosomeninfektionen zu, die eine möglichst akute Besserung erfahren haben. Diese Resultate stehen in Parallele mit den Befunden Askanazys bei perniziöser

und Bothriocephalusanämie, der Polychromasie als Haupteigentümlichkeit der meisten Erythroblasten, die Mitose zeigten, und der meisten Megaloblasten angetroffen hat. Askanazy hält Megaloblasten und Normoblasten nicht für prinzipiell, sondern nur für graduell verschieden, da er Megaloblastenkerne in Normoblasten beobachtet hat und umgekehrt.

Meine Befunde sind geeignet, diese Anschauungen hinsichtlich der Megalozyten und Normozyten zu bestätigen. Meines Erachtens ist viel eher die Polychromasie als Merkmal eines prinzipiell verschiedenen Entwicklungsganges zu betrachten, wenigstens bei den frisch eingetretenen Anämien, wie sie unter den eben angegebenen Bedingungen bei Trypanosomeninfektionen zustande kommen. Hier trifft man Kernzerfallsreste, Zentrosomen und Dehlersche Reifen nur bei polychromatophilen roten Blutkörperchen und zwar ohne sonstige Unterschiede bei Megalozyten und Normozyten. Besonders unter Benutzung der grofsen, leicht erkennbaren Dehlerschen Reifen ist man deshalb imstande, die Schicksale der polychromatophilen Erythrozyten mit weit gröfserer Genauigkeit zu verfolgen als bisher. Man findet nämlich nach einigen Tagen neben der bekannten, mit Vermehrung der Blutplättchen verbundenen Neubildung orthochromatischer Blutkörperchen auch solche, die erhaltene oder degenerierte Reifen einschliefsen und dadurch beweisen, dafs sie aus polychromatischen Erythrozyten hervorgegangen sind. Die degenerierten Reifen lassen sogar erkennen, dafs das betreffende Blutkörperchen nicht nur trotz des überstürzten Entwicklungsganges noch ausreichende Widerstandsfähigkeit besitzt, sondern dafs es auch zu ausgesprochener Aktivität befähigt ist.

Ebenso kann man die Zentrosomen zum Beweis heranziehen, dafs Umwandlungen polychromatischer Erythrozyten in orthochromatische vorkommen; denn unter denselben Bedingungen werden Zentrosomen auch in den letzteren angetroffen.

Das Vorhandensein von Zentrosomen bzw. Reifen im Blutkörperchen ist in höherem Mafse als die einfache Polychromasie das Merkmal einer Blutschädigung. Da eine solche bei kleinen

Tieren, z. B. Mäusen, durch weit geringere Anlässe hervorgebracht wird, da ferner die Häufigkeit der Anlässe mit davon abhängig ist, ob das Tier in der Freiheit oder im Käfig lebt (graue und zahme Ratten), so erklärt sich auch ohne weiteres die Verschiedenheit der Befunde bei gesunden, ausgewachsenen Tieren verschiedener Art.

Ich kehre zu den Trypanosomen selbst zurück. Wie schon im Beginn der Arbeit mitgeteilt wurde, hatte ich Gelegenheit, mit Tr. Lewisii, Tr. Brucei und Tr. equinum zu experimentieren.

Es ist bekannt, dafs das erstere von den beiden letzteren in der Art seiner Vorwärtsbewegung abweicht; dabei ist jedoch vorausgesetzt, dafs dieser Unterschied nur in solchen Bezirken deutlich hervortritt, wo die Bewegung ungehindert geschehen kann, also an blutkörperchenfreien Stellen. Sucht man nun den Bewegungsmodus genauer zu analysieren, so kommt man zu dem Resultat, dafs hier prinzipielle Unterschiede bestehen. Während nämlich Tr. Brucei und Tr. equinum, Körper und Geifsel als Ganzes genommen, sich in der Weise fortbewegt, dafs eine Welle nach der andern an dem Flagellaten von hinten nach vorn entlang läuft, wobei nur manchmal das hintere Körperdrittel fixiert und als Steuer benutzt wird, kann man bei Tr. Lewisii stets zwei Knotenpunkte beobachten, von denen der vordere im ersten Körperdrittel liegt, während der hintere sich ungefähr an der Grenze vom zweiten und dritten Drittel befindet. Der Hauptteil dieses hintersten Drittels dient stets als Steuer und schwingt deshalb nicht mit; der übrige Teil der Parasiten bewegt sich in der Weise eines in zwei Knotenpunkten fixierten, transversal schwingenden Stabes. Die beiden Bewegungsarten unterscheiden sich deshalb genau so wie fortlaufende und stehende Wellen. Bei manchen geringfügigen Ortsveränderungen und stets bei Entgegenstehen von Hindernissen wählt dagegen auch Tr. Lewisii den ersteren Modus.

Zwischen Tr. Brucei und Tr. equinum konnte ich hinsichtlich ihrer Bewegung keine charakteristischen Unterschiede wahr-

nehmen; die Schwingungen des Tr. equinum erschienen nur im allgemeinen eckiger, ungeschickter.

Am leichtesten erkennen läfst sich vielmehr der letztere Flagellat durch sein bekanntlich sehr kleines Zentrosom, das früher von manchen Beobachtern überhaupt geleugnet wurde. Laveran und Mesnil geben seine Gröfse auf $^1/_4$—$^1/_3$ μ an und betonen, dafs es sich tinktoriell nicht von der Geifsel unterscheide. Auch ich konnte mich, namentlich im Anfang, von der Schwierigkeit überzeugen, welche die Färbung dieser Körperchen bietet. Dadurch, dafs ich Farbstofflösungen, wie bisweilen bei den Blutkörperchenzentrosomen, zwei oder drei Tage einwirken liefs, erzielte ich auch hier oft doch noch ein deutliches Resultat. Die Zentrosomen hatten also in diesen Fällen das Chromatinrot später aufgenommen als die Geifsel, während bei Ratten- und Naganatrypanosomen ja die Reihenfolge umgekehrt ist. Sind die Ausstriche dünn, so dafs die einzelnen Parasiten und Blutkörperchen vollkommen isoliert liegen, so erreicht man bei guter Fixierung meist schon nach 24 stündigem Färben einwandsfreie Zentrosomen. Man kann dann sogar oft einen gegenüber der Geifsel deutlich dunkleren Farbenton an ihnen bemerken; bisweilen erscheint auch Zentrosom und Geifsel durch eine helle Zone getrennt wie bei Nagana. Ebenso liefs sich oft genug die Hintereinanderstellung der frisch geteilten Zentrosomen feststellen, wie sie Martini beim Tr. Brucei beschrieben hat.

Schon in meiner früheren Arbeit habe ich auf Befunde in frischen und gefärbten Präparaten aufmerksam gemacht, die mich veranlafsten anzunehmen, dafs die Trypanosomen die Fähigkeit besitzen, durch rote Blutkörperchen hindurchzuschlüpfen. Weitere häufige Blutuntersuchungen waren nur geeignet, mich in dieser Annahme zu bestärken, nachdem ich noch andere Begleiterscheinungen des Durchschlüpfens an den roten Blutkörperchen kennen gelernt hatte.

Den ersten Verdacht auf die Möglichkeit des Eindringens der Geifsel in das Erythrozytenplasma schöpfte ich aus den zahlreichen Bildern, wo ein isoliertes Blutkörperchen durch die

Geifselspitze eines Trypanosomas in der Weise hin- und hergeschleudert wurde, wie es etwa mit einem Stück Wäsche beim Spülen derselben geschieht. Doch lassen derartige Bilder immerhin noch eine verhältnismäfsig einfache Erklärung zu, wenn man mit Weidenreich eine Glockenform der Erythrozyten in isotonischen Lösungen annimmt.

Das beste Material zu diesen Untersuchungen liefern Tiere, bei denen eine einigermafsen reichliche Trypanosomenzahl bereits mehrere Tage vorhanden ist; es mag dies darin seinen Grund haben, dafs unter diesen Bedingungen der Widerstand des Blutkörperchenplasmas den Flagellaten gegenüber bedeutend geringer ist als im Beginn der Infektion. Richtet man hier sein Augenmerk auf solche Stellen, wo neben isolierten Blutscheiben auch Zusammenballungen von solchen zu beobachten sind, wo also ein genügender Zwischenraum zwischen Deckglas und Objektträger vorhanden ist, so wird man in mehr oder weniger häufigen Fällen während und nach dem Zusammentreffen von Flagellat und Erythrozyt an letzterem Veränderungen wahrnehmen können, die sich teils schwer, teils gar nicht durch ein einfaches Vorbeigleiten erklären lassen.

Zu den ersteren gehört die Verkürzung des Blutkörperchens in der Bewegungsrichtung des Parasiten, der deutlich langsamer fortschreitet und dessen Weg nach dem Verschwinden durch eine oft mehrere Sekunden sichtbare helle Linie im Erythrozyten markiert bleibt. Zu den letzteren gehört das momentane Vorstülpen der Blutkörperchenperipherie zu einer Spitze durch die von der Gegenseite her vordringende Geifsel, wie man es bisweilen beim Nachlassen der Bewegungsintensität beobachten kann. Es empfiehlt sich überhaupt, nach der Untersuchung des frischen Bluttropfens zum Studium der Details zu warten, bis die Bewegungen der Trypanosomen langsamer geworden sind.

Ferner ist meiner Meinung nach das Auftreten solcher Veränderungen als sicherer Beweisgrund zu verwerten, die selbst bei der hohen Elastizität der Erythrozyten nicht mehr ausgeglichen werden. So konnte ich im Blut nagana- oder cadéraskranker Meerschweinchen beim Zusammentreffen von Trypanosomen mit

Blutscheiben oft in diesen helle, zickzackförmige Linien entstehen sehen, die, je nachdem sie mehr horizontal oder mehr vertikal gerichtet waren, durch das ganze Blutkörperchen oder nur durch einen Teil desselben zu verlaufen schienen. Wurde es von einem neuen Flagellaten erfafst und kräftig geschüttelt, so verschwand auch die Zickzacklinie wieder, geringere Erschütterungen vermochten sie dagegen nicht zu beseitigen. Deshalb war es auch möglich, in einem vorsichtig hergestellten frischen Präparat dieselbe Veränderung schon an einer Reihe von Blutkörperchen vorzufinden, ein Beweis, dafs Degenerationsvorgänge aufserhalb des Körpers auch als disponierende Momente nicht in Betracht kommen.

Weniger häufig als die eben beschriebene Art konnte ich an den Erythrozyten beim Zusammenstofs mit Trypanosomen Veränderungen entstehen sehen, die auch bei längerer Beobachtung jeder Erschütterung widerstanden; sie bestanden im Auftreten kreisförmiger oder mehr langgestreckter Stellen, die sich aber auch allmählich zur Kreisform abrundeten; beide zeichneten sich durch ihre blendend weifse Farbe aus (Vakuolen?). Ihre Gröfse entsprach vom Beginn ihres Entstehens an ungefähr dem 5. bis 6. Teil des Blutkörperchens.

Auch in gefärbten Präparaten liefsen sich Bilder nachweisen, die meiner Ansicht nach als Beweisgründe für die Fähigkeit des Durchschlüpfens der Trypanosomen verwendbar erschienen. Dazu gehören die hellen Streifen in Erythrozyten, die eben von einem Flagellaten verlassen werden oder verlassen worden sind und sicher auf deren Einwirkung zurückgeführt werden dürfen. Will man aber auch diese Erscheinung deshalb nicht als beweiskräftig anerkennen, weil dafür Vorgänge verantwortlich zu machen wären, die sich erst auf dem Objektträger abgespielt hätten, so mufs doch ihre Übereinstimmung mit den Streifen auffallen, die eben als Blutplättchen ausgestofsene Erythroblastenkerne zurückgelassen haben.

Fig. 6 zeigt an dem Blutkörperchen die schon erwähnte Verkürzung in der Bewegungsrichtung des Parasiten, der in diesem Bezirk deutlich eingeschnürt erscheint und weniger

scharfe Konturen aufweist als außerhalb; hinter dieser Zone ist es durch Anstauung des Plasmas zur keulenartigen Verdickung des Körperendes gekommen. In Fig. 7 ist die Einschnürung noch erheblicher. Derartige Bilder, die ich für beweisend halte, sind in geeignetem Material gar nicht so selten.

Wie schon bemerkt, lieferten für diese Beobachtungen das brauchbarste Material diejenigen Tiere, bei denen schon mehrere Tage eine einigermaßen hochgradige Infektion bestand. Anderseits schien es mir nach den zahlreichen Untersuchungen, als ob ein Teil der Trypanosomen auffallend häufig den Weg durch Blutkörperchen wählte, während ein anderer sie vermied, so daß also zu der Disposition des Blutes noch eine Disposition der Parasiten hinzukäme.

Trotz der ausgiebigen Verzerrungen, welche die Folgen des Durchbohrens an und in den Blutkörperchen darstellen und zum Teil zu dauernden Veränderungen führen, glaube ich doch nicht, daß auf dieser Eigenschaft der Trypanosomen ein wesentlicher Teil ihrer pathogenen Wirkung basiert; denn dem Tr. Lewisii kommt sie ebenso zu wie dem Tr. Brucei und Tr. equinum.

Die Vermutung, daß mit dem Durchschlüpfen eine Nahrungsaufnahme verbunden sein könnte, hat insofern ziemlich wenig Wahrscheinlichkeit für sich, als von einem Verweilen im Blutkörperchen nur dort die Rede sein kann, wo es sich durch den deutlich erkennbaren Widerstand ohne weiteres erklären läßt. Gegen eine Sauerstoffaufnahme im Erythrozyten spricht außer dieser Tatsache, daß die Trypanosomen gegen Sauerstoffabschluß überhaupt nicht so empfindlich sind. Bewahrt man trypanosomenhaltige Blutstropfen in reiner Kohlensäureatmosphäre bei Zimmertemperatur auf, so ist am Tr. Brucei und Tr. equinum nach $1\frac{1}{2}$ Stunden, am Tr. Lewisii sogar nach 20 Stunden noch keine Schädigung erkennbar; bei 37° und sonst gleichen Bedingungen geht in denselben Zeiten ein großer Teil zugrunde, der Rest zeigt jedoch deutliche, wenn auch verlangsamte Bewegung.

Es erübrigt noch, auf einige Beobachtungen hinzuweisen, die geeignet erscheinen, dem bisher ziemlich planlosen Aus-

probieren von Heilmitteln gegen Trypanosomenkrankheiten, wenigstens nach einer Seite hin, eine wissenschaftliche Basis zu geben. Ich bemerke im voraus, dafs diese Untersuchungen, die ich erst seit verhältnismäfsig kurzer Zeit durchführe, noch keinen Anspruch auf Vollständigkeit erheben können. Trotzdem sollen sie doch schon hier erörtert werden, da ihre Folgerungen vielleicht die Lösung der Heilmittelfrage beschleunigen helfen, deren Wert besonders durch die schnelle Ausbreitung der menschlichen Trypanosomiasis im steten Wachsen begriffen ist.

Bei meinen meisten Experimenten handelte es sich, wie ich öfter erwähnt habe, darum, einigermafsen hochgradige Infektionen so zu beeinflussen, dafs die Parasiten in möglichst kurzer Zeit vollständig oder bis auf spärliche Reste beseitigt wurden. Insofern dürfen diese Versuche deshalb mit Heilversuchen nicht ganz allgemein auf eine Stufe gestellt werden. Aufser dem Prodigiosus und dem Trypanrot benutzte ich an einer Reihe von Naganaratten auch das von Wendelstadt empfohlene Malachitgrün.

Was das Trypanrot anbetrifft, so konnte ich bei Mäusen, die mit dem für grofse Tiere schwach virulenten Naganastamm infiziert waren, eher noch bessere Heilerfolge feststellen wie bei Cadérasmäusen; denn bei den im allgemeinen für Heilzwecke zu kleinen Dosen von 0,3 ccm der 1 proz. Lösung auf 15 g Maus waren bei Nagana seltener Rezidive zu verzeichnen als bei ebenso behandelten Cadérasmäusen; aufserdem wurden bei Nagana nach dem 10. Tage überhaupt keine Rezidive mehr beobachtet, bei Cadéras sogar noch nach 7 Wochen.

Das Auftreten grofser Mengen von polychromatophilen Erythrozyten war, wie schon öfter bemerkt, besonders in den Fällen zu beobachten, wo es sich um ein akutes Verschwinden reichlicher Parasiten aus der Blutbahn handelte, mochte dieses Verschwinden durch künstliche Mittel hervorgerufen sein, oder mochte es eine spontane Remission darstellen, wie sie bei Tr. Lewisii im Rattenblut und wie sie bei Tr. Brucei und equinum im Meerschweinchenblut häufig konstatiert wird. Doch auch schon dann, wenn die Anzahl der Parasiten einen

einigermafsen hohen Grad erreicht hatte, war im allgemeinen schon eine deutliche Zunahme der polychromatophilen Blutkörperchen festzustellen. Da das Auftreten bzw. die Vermehrung dieser Elemente stets darauf hinweist, dafs hier Blut in Regeneration begriffen ist, dafs also vorher gröfsere Mengen Blutkörperchen zerstört sein müssen, so beschlofs ich mittels Zählung derselben mich genauer über den Verlauf der Anämie zu informieren.

In Übereinstimmung mit dem Auftreten der Polychromasie fand sich nun selbst bei reichlichem Parasitengehalt des Blutes eine verhältnismäfsig geringe Abnahme der Zahl der Erythrozyten, die sich erst zu einer viel hochgradigeren Anämie steigerte, wenn die Parasiten verschwanden. Wenn z. B. einer Naganamaus, die schon ziemlich zahlreiche Trypanosomen aufwies, eine nicht zu hohe Trypanrotdosis injiziert wurde, so liefs sich oft am nächsten Tage noch keine Abnahme der Flagellaten, sondern nur das deutliche Häufigerwerden von Degenerationserscheinungen an ihnen beobachten; erst am Tage darauf waren in solchen Fällen die Trypanosomen verschwunden, und erst mit ihrem Verschwinden war gleichzeitig eine rapide Abnahme der Erythrozyten, oft um 2—3 Millionen pro cmm erfolgt. Geht nun die Zerstörung der roten Blutkörperchen noch weiter, so kann ein solches Tier, das von der Infektion vollständig geheilt ist, in den nächsten Tagen noch an der Anämie zugrundegehen. In der Tat sind solche Fälle gar nicht selten; in einem derselben sank die Zahl der Erythrozyten innerhalb von 20 Stunden von 8 auf 3,5 Millionen pro cmm, obwohl die vorschriftsmäfsige Trypanrotdosis nicht überschritten war; das Tier war parasitenfrei und wurde am nächsten Morgen tot vorgefunden. Es liegt nahe, ähnliche Beobachtungen Wendelstadts bei einzelnen Naganaratten, die mit Malachitgrün behandelt waren und auch trotz der Beseitigung der Flagellaten verendeten, in der gleichen Weise zu erklären.

An ungeimpften Mäusen kann man sich ebenso überzeugen, dafs nach Verabfolgung von Trypanrot im Körper ein hämolytisch wirkender Stoff erzeugt wird. Bekanntlich ist auch die

Erklärungen zu Tafel III.

Die Abbildungen entsprechen durch Auerlicht belenchteten Präparaten, welche mit Alkohol absolutus fixiert und mit der älteren Giemsamischung gefärbt wurden.

Fig. 1. Geifselloses Trypanosoma in polychromatischem Blutkörperchen: Cadérasmans, mit Trypanrot behandelt.

Fig. 2. Zentrosomen mit hellem Hof im polychromatischen Blutkörperchen eines gesunden Meerschweinchens.

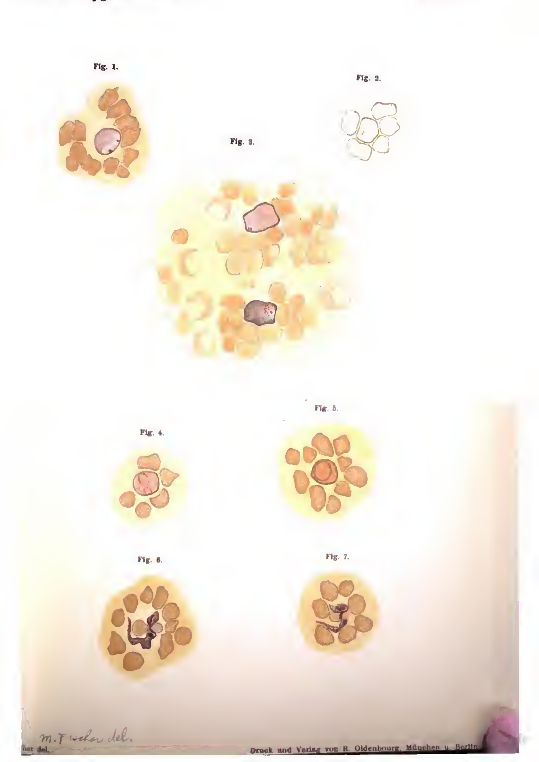
Fig. 3. Blnt einer weifsen Ratte, bei der durch Injektion einer Prodigiosusaufschwemmung nach hochgradiger Naganainfektion akute Besserung eingetreten war. Im untern dunklen polychromatischen Megalozyten aufser den Zentrosomen Reste des eigentlichen Kerns. Mehrere zu Halbmonden degenerierte, leicht bläuliche Erythrozyten; in einem noch deutliche Zentrosomen.

Fig. 4. In polychromatischem Blutkörperchen Dehlerscher Reifen, von der Seite gesehen (Achtform); an zwei Stellen punktförmige Verdickungen. Meerschweinchen im Beginn der spontanen Remission einer Cadérasinfektion.

Fig. 5. Dehlerscher Reifen, von der Fläche gesehen, einige Tage später. Polychromasie weniger ausgesprochen, Reifen dünner, mehr graurot.

Fig. 6. Durchschlüpfendes Tr. Brucei, Ratte.

Fig. 7. Durchschlüpfendes Tr. equinum, Maus. Einschnürung noch erheblicher, hochgradige Infektion, daher viele Granula im Parasiten.



Druck und Verlag von R. Oldenbourg, München u. Berlin.

Über das Eindringen von Bakterien in feinste Kapillaren.

Von

Dipl.-Ing. **Erich Hofstädter.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Technischen Hochschule zu Dresden.)

(Mit einer Tafel.)

Nicht in allen Fällen steht einem Gemeinwesen in hygienischer Beziehung einwandfreies Wasser zu Gebote, um damit den Bedarf seiner Bewohner an Trinkwasser zu decken. Sehr häufig mufs das Wasser, das aus Flüssen, Seen, Talsperren entnommen wird, vorher gereinigt werden, ehe es der Leitung übergeben werden kann. Diese Reinigung geschieht mit Hilfe von Filtern; sei es, dafs das Wasser grofse Sandfilter durchtreten mufs, ehe es in die Leitung kommt, sei es, dafs die Filtration erst im Hause selbst dadurch vor sich geht, dafs an dem Auslaufhahn kleine Filter angeschlossen werden. Von beiden Filterarten erwartet man, dafs sie alle auch die kleinsten suspendierten Substanzen, in erster Linie also die beigemischten Mikroorganismen zurückhalten.

Es hat sich nun herausgestellt, dafs diese Filter durchaus nicht in gleicher Weise arbeiten. Es kommt z. B. vor, dafs das eine Sandfilter drei Wochen und darüber ein gutes, keimarmes Filtrat liefert, während das andere, scheinbar in der gleichen Weise hergestellte, schon nach wenigen Tagen undicht wird. Diese und andere Erscheinungen lenkten die Aufmerksamkeit der Untersucher auf das Studium des Prozesses, der sich bei

der Filtration abspielt, und liefsen die Frage entstehen, auf welche Weise die Bakterien durch die Filter zurückgehalten werden.

Wir haben es den Untersuchungen von Fränkel und Piefke[3]) zu verdanken, dafs man heute wenigstens bei den Sandfiltern einigermafsen Klarheit über das Wesen dieses wichtigen Vorganges gewonnen hat. Als das Resultat dieser und anderer Untersuchungen hat sich vor allem herausgestellt, dafs die Wirkung der Sandfilter in hohem Mafse von dem Vorhandensein und der Beschaffenheit einer oberflächlichen Schlammschicht abhängig ist. Die Sandmassen allein sind nicht imstande, Bakterien zurückzuhalten, dazu sind die Poren, die sich zwischen den einzelnen Körnchen des Feinkieses befinden, viel zu grofs. Erst wenn diese durch Unreinigkeiten verschiedener Art, die im Wasser enthalten sind (Schlammteilchen, abgestorbene und aufgequollene Bakterienleiber), verengt sind und sich dadurch eine genügend dichte oberflächliche Schmutzhaut gebildet hat, wird das Filter wirksam.

Ein weiteres Hapterfordernis für ein günstiges Ergebnis der Sandfiltration ist das Einhalten einer gewissen, 100 mm pro Stunde nicht übersteigenden Filtriergeschwindigkeit. Wird ein Sandfilter zu stark beansprucht, so kann leicht ein Durchschwemmen der Bakterien stattfinden. Fränkel und Piefke[3]) haben bei ihren Untersuchungen gefunden, dafs Anfang und Ende einer jeden Filtrationsperiode besonders gefährliche Zeiten sind. Im ersteren Falle ist die Bildung der Schmutzhaut noch nicht genügend weit fortgeschritten, um den Bakterien den Durchgang zu verwehren. Im anderen Falle ist die Stärke derselben schon zu bedeutend, und es bedarf hoher Drucke, um überhaupt Wasser hindurchzubekommen. Als Folge davon kann leicht ein Durchpressen der Bakterien in die Tiefe oder ein Zerreifsen der Schlammschicht eintreten.

Aufser dieser Gefahr des Durchschwemmens der Bakterien tritt bei langer Dauer der Filtration noch die Möglichkeit hinzu, dafs ein Durchwachsen der Bakterien stattfindet. Bei langer Benutzung des Filters sammelt sich in den Poren desselben ge-

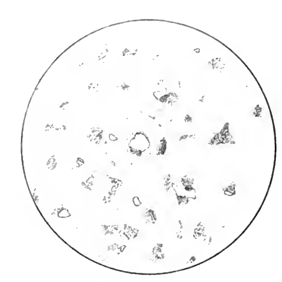


Fig. 1. Haldenwanger-Z.
Vergr. 50fach. (Zeiſs, Obj. AA., Ok. 2.)

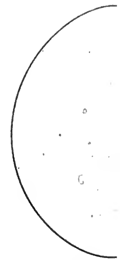


Fig. 2. B
Vergr. 50fach. (Zeiſ

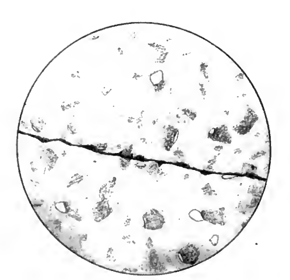
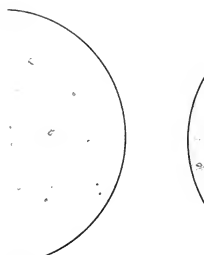


Fig. 4. Ferrocyankupfer-Membran.
Vergr. 50fach. (Zeiſs, Obj. AA., Ok. 2.)



Fig. 5. Bak. in
Vergr. 730fach. (Zeiſs,

: Oldenbourg, München u. Berlin.



erliner-Z.
3, Obj. AA., Ok. 2.)



Fig. 3. Berkefeld-Z.
Vergr. 50fach. (Zeiß, Obj. AA., Ok. 2.)



Haldenwanger-Z.
Ok. 3, $^1/_{12}$ kom. Imm.)

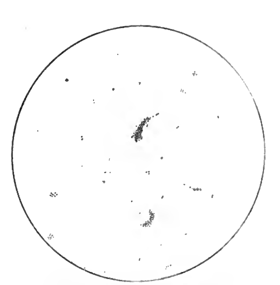


Fig. 6. Kokken in Haldenwanger-Z.
Vergr. 730fach. (Zeiß, Ok. 3, $^1/_{12}$ kom. Imm.)

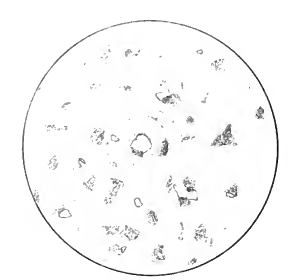


Fig. 1. Haldenwanger-Z.
Vergr. 50fach. (Zeifs, Obj. AA., Ok. 2.)



Fig. 2. B
Vergr. 50fach. (Zeif

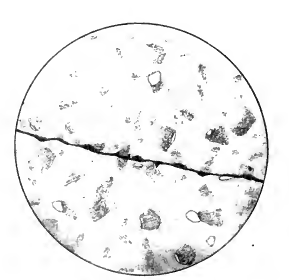
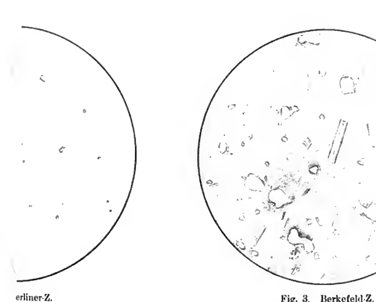


Fig. 4. Ferrocyankupfer-Membran.
Vergr. 50fach. (Zeifs, Obj. AA., Ok. 2)



Fig. 5. Bak. in
Vergr. 750fach. (Zeifs

Verlag von R. Oldenbourg, München u. Berlin



erliner-Z.
...h. Obj. AA., Ok. 2.)

Fig. 3. Berkefeld-Z.
Vergr. 50fach. (Zeifs, Obj. AA., Ok. 2.)



Haldenwanger-Z.
...Ok. 3, 1/12 kom. Imm.)

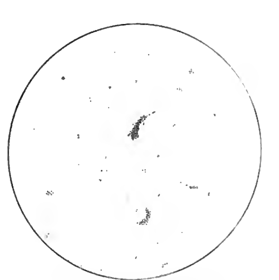


Fig. 6. Kokken in Haldenwanger-Z.
Vergr. 730fach. (Zeifs, Ok. 3, 1/12 kom. Imm.)

nügend Nährmaterial an, wodurch eine Vermehrung der Mikroorganismen ermöglicht wird.

Die Kleinfilter sollen den Konsumenten in die Lage setzen, aus dem ihm gelieferten, unvollkommen gereinigten Wasser vollkommen keimfreies Wasser herzustellen. Inwieweit sie dieser Anforderung gerecht werden, kann man aus den zahlreichen, in der Literatur behandelten Untersuchungen ersehen, die darüber ausgeführt worden sind. Ebenso wie bei den Sandfiltern gilt es heute als eine wissenschaftlich feststehende Tatsache, dafs die Kleinfilter auf die Dauer kein keimfreies Filtrat liefern.

Bei der grofsen Bedeutung der Kleinfilter in hygienischer Beziehung ist es nicht zu verwundern, dafs sich die Forschung in ausgedehntem Mafse dem Studium derselben widmete.

Es liegt mir fern, die Wirkungsweise und Anwendung der Kleinfilter zu kritisieren. Vielmehr veranlafst mich die heute noch in manchen Punkten zutage tretende Unklarheit über das Wesen der Filtration, das Verhalten der Bakterien bei diesem wichtigen Vorgange zum Gegenstand eines genauen Studiums zu machen. Über die Gröfse der Poren der Kleinfilter befindet man sich z. B. noch sehr im Unklaren. Es sind nach dieser Richtung bis jetzt aufser einer Arbeit von E. v. Esmarch[2]) keinerlei Untersuchungen angestellt worden. Und doch ist es von gröfstem Interesse, in dieser Beziehung genaue Anhaltspunkte zu gewinnen. Ich stellte mir daher die Aufgabe, das Hindurchgehen von Bakterien durch feinste Capillaren zu untersuchen. Bei den nahen Beziehungen, die zwischen den in der Literatur befindlichen Arbeiten und den von mir angestellten Untersuchungen bestehen, halte ich es für angebracht, die von den verschiedenen Forschern vertretenen Ansichten über Kleinfilter einer kurzen Betrachtung zu unterwerfen.

Zur Herstellung von Kleinfiltern hat man sich der mannigfachsten porösen Materialien bedient. In erster Linie kamen hierfür Stoffe in Betracht, deren wasserreinigende Wirkung bekannt ist, wie feiner Sand und Tierkohle. Auch verschiedene

Faserstoffe wie Watte und Cellulose wurden in komprimiertem Zustande verwendet. Über Filter aus letztgenannten Materialien hat W. Hesse[6]) Versuche angestellt. Er fand, dafs ihre Wirkung eine äufserst geringe war. Schon nach verhältnismäfsig kurzer Zeit zeigte sich ein massenhaftes Auftreten von Keimen im Filtrat. Bessere Resultate erzielte er mit Filtern, die aus Tierkohle und komprimiertem Asbest hergestellt waren. Sie hielten anfangs alle Keime zurück; erst nach einigen Tagen traten Bakterien im Filtrat auf. Von Interesse ist die von Hesse besonders bei Kohlefiltern gemachte Beobachtung, dafs nicht die allerkleinsten Bakterienarten zuerst im Filtrat erschienen, sondern ein schon etwas gröfserer Bazillus, der lebhafte Eigenbewegung besafs. Es berechtigt diese Erscheinung zu der Folgerung, dafs die Keime nicht passiv von der Filtrationsströmung durchgeschwemmt wurden, sondern aktiv durch das Filter hindurchgewachsen waren. Diese Annahme wird noch bestärkt durch die Wahrnehmung, dass nach einiger Zeit die Menge der im Filtrat enthaltenen Keime gröfser war als im Rohwasser. Ebenso wie bei der Sandfiltration nach längerer Betriebsdauer kann man auch hier auf eine Vermehrung der Bakterien im Filter selbst schliefsen. Die günstigsten Resultate erhielt W. Hesse[6]) mit Filtern aus stark komprimiertem Asbest. In einer späteren Arbeit[7]) beschreibt er eine Reihe von Versuchen, durch die er die Überlegenheit der von ihm vorgeschlagenen Asbestfilter über die Chamberland-Pasteurschen Tonfilter feststellt. Er behandelt eingehend den grofsen Einflufs verschieden hoher Drucke auf die Wirkung der Filtration und führt den Beweis, dafs eine Erhöhung des Druckes eine Verminderung der Leistungsfähigkeit zur Folge hat.

Weitere ausführliche Untersuchungen über Ton- und Asbestfilter wurden von Plagge[19]) angestellt. Nach ihm vermag die Mehrzahl der bekannten Hausfilter keineswegs längere Zeit die Bakterien zurückzuhalten. Es kann vielmehr der Keimgehalt des Filtrates nach längerer Zeit 100—1000 mal gröfser sein als der des Wassers vor der Filtration. Auch nach Plagge findet eine reichliche Vermehrung der Bakterien innerhalb des Filters selbst und ein Durchwachsen durch dieses statt.

Über die von Hesse[6]) vorgeschlagenen Asbestfilter und die Tonfilter verschiedener Konstruktion äufsert sich Plagge dahin, dafs sie in der Tat eine Zeit lang völlig keimfreies Wasser liefern, dafs dies aber auch nur eine vorübergehende Erscheinung sei.

Kübler[10]) stellte ebenfalls über die Leistungsfähigkeit des Pasteur-Chamberlandschen Tonfilters eine gröfsere Anzahl von Versuchen an. Er kam bei Anwendung aller Vorsichtsmafsregeln zu dem Resultat, dafs es nur sehr kurze Zeit, nämlich höchstens vier Tage vollkommen keimfreies Wasser liefert, und er fand in Übereinstimmung mit Plagge, dafs nach ca. acht Tagen im Filtrat mehr Keime enthalten waren als im Rohwasser. Die Menge des Filtrats liefs ebenfalls bedeutend nach, da sich auf der Oberfläche der Filterkerze eine dichte Schlammschicht bildete.

Aufser dem Pasteur-Chamberlandschen Tonfilter hat das aus gebrannter Infusorienerde hergestellte Berkefeld-Filter eine grofse Verbreitung gefunden und ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Die über die Leistungsfähigkeit dieses Filters, namentlich hinsichtlich seines Verhaltens gegenüber Typhus- und Cholerakeimen ausgesprochenen Meinungen sind derartig verschieden, dafs es von grofsem Interesse ist, kurz darauf einzugehen.

Hierbei ist allerdings die Ansicht Plagges zu erwähnen, die besagt, dafs eine Unterscheidung der Keime in pathogene und nicht pathogene bei der Filtration zunächst nicht in Betracht komme. Er findet keine Erklärung dafür, dafs ein Filter pathogene Keime zurückhalten und nicht pathogenen Keimen den Durchgang gestatten sollte.

M. Kirchner[8]) sprach die Behauptung aus, dafs die genannten Kleinfilter keineswegs für die pathogenen Keime undurchlässig seien. Er führte seine Versuche derart aus, dafs er dem Rohwasser Typhus- bzw. Cholerakeime enthaltende Nährbouillon zusetzte. Es gelang ihm schon nach kurzer Zeit der Nachweis der betreffenden pathogenen Keime im Filtrat. Dieses Ergebnis führte ihn zu einer strengen Verurteilung der Kleinfilter.

Der von M. Kirchner ausgesprochenen Meinung treten M. Gruber[4]) und H. Schöfer[21]) mit Entschiedenheit entgegen. Sie stellen die Behauptung auf, dafs nur durch Zusatz von Nährlösung zum Rohwasser ein Durchwachsen von Typhus- und Cholerakeimen möglich sei.

Die Ernährungsansprüche dieser pathogenen Keime seien mit denen der gewöhnlichen Wasserbakterien nicht zu vergleichen. Nach Gruber können nur solche Bakterienarten durch die Filter hindurchwachsen, die in den Poren die Bedingungen für ihre Vermehrung vorfinden. Bei den gewöhnlichen Wasserbakterien ist dies der Fall, was durch die Tatsache bewiesen wird, dafs sie oft im Filtrat in gröfserer Menge vorhanden sind als im Rohwasser. Für Typhus- und Cholerakeime ist nach Gruber das Wasser eine viel zu schlechte Nährflüssigkeit, und es ist aus diesem Grunde ihre Vermehrung im Filter unmöglich. Infolgedessen ist ein Durchwachsen dieser pathogenen Keime unter gewöhnlichen Umständen gänzlich ausgeschlossen. Schöfer stellte seine Versuche mit Typhus- und Cholerabazillen zum Unterschied von Kirchner derart an, dafs er nicht Aufschwemmungen in Nährbouillon, sondern in sterilem Leitungswasser benutzte. Er fand, dafs die betreffenden Keime im Filtrat nicht erschienen; wohl aber trat dies sofort ein, wenn er dem Rohwasser Nährlösung zusetzte. Es wurde dadurch die Bedingung zur Vermehrung im Filter erfüllt, und die Folge war ein Auftreten der Typhus und Cholerakeime im Filtrat. Beide verschwanden aber, sobald die Nährlösung durch Auswaschen entfernt war.

Diese von Gruber und Schöfer vertretene Ansicht wird durch Versuche von Lübbert[12]) bestätigt, der dem Rohwasser Reinkulturen pathogener Keime zusetzte und nachwies, dafs sie nicht ins Filtrat übergingen. Die Verschiedenheit der von zahlreichen Forschern gemachten Angaben über die Zeit, während welcher ein Filter keimfreie Filtrate liefert, ist nach Schöfer zurückzuführen auf den grofsen Einflufs, den die Temperatur ausübt. Wurde von den Beobachtern Wasser von Zimmertemperatur zu den Versuchen benutzt, so zeigte sich, dafs schon nach einigen Tagen der Keimgehalt des Filtrates rasch anstieg.

Wandte man aber Wasser von niederer Temperatur an, so erhielt man mehrere Wochen hindurch keimfreie Filtrate. Die Ursache hiervon ist wiederum in den Lebensbedingungen der Bakterien zu suchen. Durch höhere Temperaturen wird ihre Vermehrung in hohem Maſse begünstigt, durch niedere jedoch verhindert.

E. v. Esmarch[2]) fand, daſs die bekannten Filterarten, selbst wenn sie sämtliche gröſseren Bakterien mit Sicherheit zurückzuhalten vermögen, keineswegs als keimdicht zu bezeichnen sind, weil sie von den kleinsten, mit den besten Mikroskopen nicht erkennbaren Bakterien mit Leichtigkeit durchdrungen werden.

Aus der von vielen Forschern festgestellten Tatsache, daſs die Filterwände von den Bakterien unter geeigneten Umständen in verhältnismäſsig kurzer Zeit durchdrungen werden, kann man den Schluſs ziehen, daſs die Poren der Filter bedeutend gröſser sind als die Durchmesser der Bakterien. Nach Möller[15]) müssen Filter, die dauernd keimdicht bleiben sollen, Poren haben, die kleiner sind als die kleinsten Keime, und er glaubt, daſs man dies mit komprimiertem Asbest oder Ton erreichen kann. Man vertritt heute die für die Theorie der Filtration wichtige Ansicht, daſs die Zurückhaltung der Bakterien in einem Filter nicht durch die Feinheit der Poren, sondern durch Flächenattraktion bewirkt wird. Man stellt sich vor, daſs, ebenso wie bei den Sandfiltern die oberflächliche Schlammschicht die Wirksamkeit des Filters ausmacht, bei den Kleinfiltern die Bakterien sich an der Oberfläche anlagern.

Angesichts dieser verschiedenen Ansichten über das Hindurchtreten von Bakterien durch Filter ist es von Interesse zu untersuchen, wie eng Kapillaren sein müssen, damit Bakterien durch sie nicht mehr hindurchzugehen vermögen, und die Kapillaren dann mit Schliffen von Filterkerzen zu vergleichen.

Es lag mir nun in erster Linie daran, sicheren Aufschluſs über die Gröſse der Poren verschiedener Kleinfilter zu erlangen. Zu diesem Zwecke verschaffte ich mir eine gröſsere Anzahl Filterkerzen, und zwar: 1. Tonfilter von der Kgl. Porzellanmanufaktur, Berlin, 2. Tonfilter von Haldenwanger, Charlottenburg, 3. Berkefeldsche Kieselguhrfilter. Die ersteren beiden besaſsen die von

Pukall[20]) angegebene und wegen ihrer grofsen Oberfläche als am vorteilhaftesten gepriesene Ballonform. Die geringe Widerstandsfähigkeit der Chamberland-Pasteurschen Filter veranlafste Pukall in dieser Richtung Versuche anzustellen. Durch geeignete Mischung verschiedener Kaoline, und namentlich durch Anwendung höherer Temperaturen beim Brennen gelang es ihm, ein Filter von gröfster Haltbarkeit herzustellen. Er war der Meinung, dafs dasselbe nach seinem physikalischen Verhalten Poren von gröfster Feinheit haben müfste.

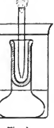
Die von zahlreichen Forschern bis jetzt angestellten Untersuchungen wurden alle in der Absicht ausgeführt, den praktischen Wert der Kleinfilter zu prüfen. Es lag mir fern und wäre zwecklos gewesen, mit den Zellen Filtrationsversuche auszuführen, sondern ich wollte einzig und allein rein theoretische Untersuchungen darüber anstellen, in welchen Zeiten die Zellen von verschiedenen Bakterienarten durchdrungen würden. Es handelte sich zuerst um die passende Wahl der Bakterien, die bei den Versuchen zur Anwendung gelangen sollten. Da für mich nur Reinkulturen in Betracht kamen, und ich die Anwesenheit anderer Bakterien bei den Versuchen strengstens vermeiden wollte, kamen in erster Linie Bakterienarten in Betracht, die sich mit grofser Leichtigkeit nachweisen lassen. Es sind dies vor allem die Farbstoff bildenden Bakterien. Da aufserdem ein schnelles und üppiges Wachstum der betreffenden Bakterien erwünscht war, so wählte ich für meine Versuche Bacillus prodigiosus und Bacillus fluorescens longus. Den ersteren züchtete ich auf Agar, den letzteren auf Gelatine. Aufser diesen beiden sehr kleinen Bakterienarten wählte ich zu meinen Versuchen als gröfseren den Heubazillus, der durch seine charakteristische Wuchsform leicht zu erkennen ist.

Von Kokken, deren Verhalten Kapillaren gegenüber ebenfalls von Interesse schien, wählte ich zwei Arten. Die einen hatte ich aus Ingwerwurzel isoliert, die anderen waren grofse gelbe Kokken.

Die Versuche stellte ich in der folgenden Weise an. Die Zellen wurden durch wiederholtes Auskochen in destilliertem

Wasser gereinigt und durch Erhitzen in strömendem Wasserdampf sterilisiert. Die Berkefeld-Zellen mufsten wiederholt mit einer Bürste abgerieben werden, da sich von denselben ein feiner Schlamm loslöste, der während des Versuches die Nährlösung trübte und ein genaues Beobachten der Versuche auf das Wachstum von Bakterien hin sehr erschwerte.

Um während der Versuche die Zellen vollkommen steril aufzubewahren, traf ich die Fig. 1 dargestellte Anordnung. Ich setzte die Zelle in ein dünnwandiges Becherglas und überspannte dieses mit einer Gummikappe, durch deren Mitte ich mit einer Nadel ein Loch stiefs und eine bis in die Zelle reichende, am unteren Ende spitz ausgezogene Glasröhre hindurchsteckte. Letztere wurde oben mit einem Wattebausch verschlossen. Die zu den Versuchen benutzte Nährlösung bestand aus 1 proz. Fleischextraktbouillon mit Zusatz von 1% Pepton und 0,5% Kochsalz. Bei den Versuchen mit Heubazillus nahm ich an Stelle der Bouillon Nährgelatine aus Fleischwasser, in der er besser wuchs.


Fig. 1.

Der Apparat wurde nun soweit mit Nährlösung gefüllt, dafs nur der ballonförmige Teil der Zellen davon bedeckt wurde. Hierauf erfolgte durch ½ stündiges Erhitzen im strömenden Dampf die Sterilisation des Apparates, und nach dem Abkühlen wurde durch das Glasrohr das Bakterienmaterial in das Innere der Zelle gebracht. Es geschah dies in der Weise, dafs ich der Reinkultur der betreffenden Bakterienart eine grofse Öse entnahm, diese in 10 ccm sterile Bouillon brachte und damit gehörig vermengte. Die so hergestellte Aufschwemmung füllte ich mittels einer sterilen Pipette in das Innere der Zelle. Die Pipetten stellte ich mir durch Ausziehen von Glasröhren her und benutzte sie nur zu einem Versuche. Die so geimpften Zellen wurden in dem Brütschrank einer Temperatur von ca. 35° C ausgesetzt und täglich nachgesehen, ob die aufsen befindliche Nährlösung noch vollkommen klar war, also die Wandung der betreffenden Zelle von Bakterien durchdrungen worden war oder nicht. Zeigte sich

bei einem Apparate eine deutliche Trübung der Nährlösung, so wurde er auseinandergenommen und der Nachweis geführt, dafs die bei dem Versuche zur Anwendung gekommene Bakterienart auch wirklich in Reinkultur vorhanden war.

Bei der von mir getroffenen Anordnung der Versuche, insbesondere des Abschlusses der Zellen, ist eine Infektion durch andere Keime von aufsen her nicht ein einziges Mal eingetreten. Wohl aber stellten sich mir grofse Schwierigkeiten in den Weg bei der Sterilisation der schon zu einem Versuche benutzten Zellen. Da es vor allem in bezug auf die Genauigkeit der Resultate interessant war, zu erfahren, in welchen Zeiten ein und dieselbe Zelle von verschiedenen Bakterienarten durchdrungen würde, machte sich eine gründliche Reinigung der schon benutzten Zellen erforderlich. Zu diesem Zwecke wässerte ich letztere zunächst wiederholt in destilliertem Wasser, um die Nährlösung aus den Poren zu entfernen, und setzte mittels Gummistopfens ein ca. 1,5 m langes Trichterrohr auf die Zellen, um Wasser durch deren Wandungen treiben zu können. Darauf wurden die Zellen ca. 2 Stunden lang ausgekocht und nun zu anderen Versuchen benutzt. Sehr oft trat nach 1—2 Tagen in den z. B. mit Kokken und Bacillus fluorescens angesetzten Apparaten bereits starkes Wachstum ein. In allen Fällen war es ein gröfserer, Gelatine verflüssigender Bazillus, der sich hier eingeschlichen hatte. Die Zellen wurden darauf wieder gewässert und im Autoklaven 1 Stunde auf 110° erhitzt, doch auch das erwies sich als ungenügend, und erst nach 2stündigem Erhitzen bei 1 Atm. im Autoklaven waren die Zellen vollkommen steril.

Tabelle I.

Angabe der Tage, innerhalb welcher die Bakterien durch die Zellen hindurchtraten.

	Haldenw.-Z.	Berliner.-Z.	Berkefeld-Z.
Bac. prodigiosus	2	2	3
Bac. fluorescens	5	5	9
Heubazillus	—	—	—
Gelbe Kokken	—	—	—
Ingwer-Kokken	14	14	25

Heubazillen nnd gelbe Kokken waren innerhalb von 30 Tagen noch nicht hindurchgetreten. Der Versuch wurde dann abgebrochen.

Aus dieser Zusammenstellung ersieht man einen bedeutenden Unterschied in dem Verhalten der einzelnen Bakterienarten. Bacillus prodigiosus durchdringt die Zellen am schnellsten. Es ist dies wahrscheinlich durch seine äufserst geringe Gröfse und vor allem durch seine lebhafte Eigenbewegung zu erklären. Prodigiosus am nächsten steht Fluorescens. Er zeichnet sich ebenfalls durch schnelle Eigenbewegung aus, ist aber immerhin beträchtlich gröfser als Prodigiosus, braucht infolgedessen auch längere Zeit zum Durchwachsen. Die gröfste von mir angewandte Bakterienart, der Heubazillus, durchdrang die Zellen trotz ausgezeichneten Nährbodens selbst in 30 Tagen nicht. Wegen seiner schnellen Bewegungsfähigkeit könnte man zu dem Glauben neigen, dafs er in verhältnismäfsig kurzer Zeit die Zellen durchwandern würde. Doch es ist hier seine bedeutende Länge und vor allem die für ihn charakteristische Kettenbildung, die oft ganz beträchtliche Ausdehnung erreicht, in Betracht zu ziehen. Eine weitere Erklärung findet man in dem Vergleich der mit Prodigiosus, Fluorescens und Heubazillus angesetzten Bouillonkulturen. Während man bei den ersteren beiden eine äufserst starke Trübung der Nährlösung wahrnimmt, ist dio durch den Heubazillus hervorgerufene nur sehr gering, und nur die auf dem Boden sich ansammelnden Flocken lassen deutlich das Wachstum desselben erkennen.

Von Interesse ist ferner der in dem Verhalten der beiden Kokkenarten zutage tretende Unterschied. Die gelben Kokken durchdringen trotz starken Wachstums selbst in 30 Tagen nicht die Zellen, während die Ingwer-Kokken schon in 14 Tagen die Tonzellen durchwandern. Bei allen mit den gelben Kokken von mir angestellten Versuchen war im Innern der Zellen ein starker Bodensatz zu bemerken, und die Nährlösung war gänzlich in Fäulnis übergegangen, während aufsen nicht die geringste Trübung wahrzunehmen war.

In bezug auf die Dauer der Versuche war ich der Meinung, dafs die Frist von 30 Tagen eine genügend lange sei. Den betreffenden Bakterienarten waren die günstigsten Bedingungen für schnelles Wachstum und reichliche Vermehrung gegeben, und es wäre unter diesen Umständen überflüssig gewesen, die Dauer der betreffenden Versuche noch länger auszudehnen.

Deutlich werden die Resultate auch beeinflufst durch die Stärke der Zellwand und deren mehr oder weniger dichtes Gefüge. Die Haldenwangersche war ungefähr doppelt, die Berkefeldsche ziemlich dreimal so stark als die Berliner-Zelle. Während dies beim Prodigiosus von ganz geringem Einflusse ist, tritt es beim Fluorescens schon deutlicher zutage und der gröfste Unterschied besteht bei den Ingwer-Kokken. Fluorescens braucht zum Durchwachsen der Berkefeld-Zelle 4 Tage, die Ingwer-Kokken 10 Tage mehr Zeit als zur Durchdringung der Tonzellen.

Die weitere Aufgabe bestand darin, genaue Kenntnis über die Gröfse der Poren der verschiedenen Zellen zu erlangen. Die einzige Möglichkeit, dies zu erreichen, bestand in der Anfertigung von Dünnschliffen. In der Mineralogie bedient man sich bekanntlich dieser Methode, um das Gefüge poröser Gesteine, Schlacken usw. näher zu studieren, und die Gestalt und Gröfse der in ihnen vorkommenden Hohlräume kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke wurden die Zellen zertrümmert, zum Schleifen geeignete Stücke herausgesucht und sorgfältig getrocknet. Letztere wurden in Kanadabalsam gekocht, um die Poren damit auszufüllen und ein Verstopfen derselben beim Schleifen durch Schmirgel usw. zu verhindern. Das so behandelte Stück der Tonzelle wurde auf einen Objektträger mit Kanadabalsam aufgekittet, nachdem an ihm eine ebene Fläche erzeugt worden war, und mit der Hand ein Schliff von möglichster Feinheit hergestellt. Es ergab sich bei der Betrachtung der so gewonnenen Dünnschliffe unter dem Mikroskop die überraschende Tatsache, dafs die Poren der Zellen mitunter von bedeutender Gröfse waren, und dafs zwischen den drei verschiedenen von mir benutzten Arten in dieser Hinsicht nur ein verhältnismäfsig geringer Unterschied bestand. In bezug auf die Anzahl der Poren stand die

Berkefeld-Zelle obenan, während die Berliner-Zelle nur äufserst wenig grofse Poren aufwies, überhaupt ein viel dichteres Gefüge zeigte. Die auf Tafel IV bei 50facher Vergröfserung dargestellten Abbildungen der Zellschliffe lassen diesen Unterschied deutlich erkennen. Die Dimensionen der gröfsten in den einzelnen Dünnschliffen gemessenen Hohlräume will ich in der folgenden Übersicht in μ angeben.

Tabelle II.

Dimensionen der gröfsten Poren (in μ).

Haldenw.-Z.		Berliner-Z.		Berkefeld-Z.	
L.	B.	L.	B.	L.	B.
100	100	40	75	100	100
60	100	40	60	90	90
50	75	25	30	75	100

Die Vermutung, dafs diese Hohlräume durch unvorsichtige Behandlung des höchst empfindlichen Materials beim Schleifen entstanden sein könnten, ist gänzlich ausgeschlossen, da der Schliff nach dem Schleifen eine spiegelglatte Oberfläche hatte, und etwaige Sprünge oder gar Lücken selbst bei genauester Betrachtung nicht zu bemerken waren.

Bei dem Vorhandensein derartig grofser Hohlräume in den Wandungen der Zellen kann man mit Sicherheit annehmen, dafs in ihnen eine Vermehrung der Bakterien stattfindet. Dies wäre festgestellt durch die Herstellung von gefärbten Präparaten. Ich wurde hauptsächlich durch den Erfolg der von Miller[14]) angestellten Untersuchungen über die in zerstörtem Zahnbein enthaltenen Bakterien veranlafst, die nämliche Färbung bei den Tonzellen anzuwenden. Miller stellte aus dem Zahnbein feine Schliffe her, färbte die darin enthaltenen Bakterien nach einer besonderen Methode, und es gelang ihm auf diese Weise, über die Anordnung der Bakterien genauen Aufschlufs zu erhalten. Um die Bakterien in Dünnschliffen von Filtern sichtbar zu machen, filtrierte E. v. Esmarch[2]) durch die betreffenden Filter

ca. 5—10 Minuten lang wässerige Fuchsinlösung. Es gelang mir durch eine derartige einfache Färbung nicht, befriedigende Resultate zu erzielen.

Gröfsere Anhäufungen von Bakterien waren deutlich zu erkennen, vereinzelte Bakterien hingegen traten gegenüber stark gefärbten Partien der Zellmasse vollkommen zurück. Ich hielt aus dem Grunde eine Entfärbung der Zellmasse durch Anwendung der Gramschen Färbungsmethode für unbedingt erforderlich. Nach einigen mifslungenen Versuchen, Bacillus fluorescens und prodigiosus in den Schliffen zu färben, setzte ich einige Haldenwangersche Zellen an, in deren Inneres ich faule Bouillon brachte, in welcher, wie ich mich vorher überzeugt hatte, ein gröfserer, nach Gram gut färbbarer Proteus ähnlicher Bazillus, in einem andern Fall eine gröfsere Kokkenart in Menge vorhanden war. Nach ca. 8 Tagen wurden von den Zellen Schliffe angefertigt, die ich nach der Günther-Gramschen Methode färbte. Der Kanadabalsam wurde, wie oben, aus dem Schliff entfernt, und dieser darauf ca. $^1/_4$ Stunde lang in die Farbstofflösung gelegt, die aus 1 Teil konzentrierter alkoholischer Gentianaviolettlösung und 9 Teilen Anilinwasser bestand. Darauf kam der Schliff einige Minuten in Jod-Jodkaliumlösung und wurde dann solange in oft erneuerten Alkohol gelegt, bis keine Farbwolken mehr aufstiegen. Nach dem Aufhellen in Xylol bettete ich den Schliff in Kanadabalsam ein.

Die so erhaltenen Präparate, von denen auf Tafel IV, Fig. 5 und 6, einige Ansichten abgebildet sind, gaben ein deutliches Bild von der Anordnung der Bakterien. An manchen Stellen waren gröfsere Anhäufungen derselben wahrzunehmen, aber auch auf der übrigen Fläche waren sie in mehr oder weniger grofser Zahl vorhanden. Die letztere Beobachtung läfst auf das Vorhandensein von vielen feinen Poren schliefsen, die nur bei Schliffen von allergröfster Feinheit zutage treten würden.

Durch die Herstellung dieser Präparate gelang mir also der Nachweis, dafs die ganze Zellwandung von Bakterien durchsetzt ist und besonders in den gröfseren Poren eine Anhäufung derselben stattfindet.

Nachdem ich das Verhalten einiger Bakterienarten gegen die Kleinfilter festgestellt und durch die Anfertigung von Dünnschliffen und gefärbten Präparaten einigermafsen Klarheit über die Beschaffenheit der Poren von Kleinfiltern gewonnen habe, will ich nun zum Hauptteil meiner Arbeit, dem Eindringen von Bakterien in feinste Kapillaren übergehen. Zuvor will ich noch eine kurze Übersicht über die Untersuchungen geben, die bereits über das Eindringen von Bakterien in Kapillaren angestellt worden sind. In erster Linie sind hier die ausgedehnten Untersuchungen zu erwähnen, die Pfeffer[16])[17]) ausführte, um die durch chemische Reize hervorgerufenen Richtungsbewegungen von Bakterien und anderen Mikroorganismen kennen zu lernen, und vor allem um die Reizschwellen festzustellen.

Die Methode, deren sich Pfeffer[16]) bei seinen zahlreichen Versuchen bediente, bestand darin, dafs er 7—12 mm lange Glaskapillaren, die meist innere Durchmesser von 0,1—0,14 mm und 0,03—0,04 mm hatten, zum Teil mit der zu untersuchenden Flüssigkeit anfüllte. Es geschah dies derart, dafs er die Kapillaren auf einer Seite zerschmolz, in ein Uhrglas mit der betreffenden Lösung brachte und letztere durch Evakuieren unter der Luftpumpe ca. 2—4 mm weit einsaugte. Die Kapillaren wurden darauf sorgfältig mit Wasser abgespült und unter dem Mikroskop zu dem geimpften Wassertropfen geschoben. Auf zwei Papierstreifen legte Pfeffer ein Deckglas über den Tropfen, um ein zu schnelles Verdunsten desselben zu verhindern. Zuerst untersuchte Pfeffer das Verhalten der Samenfäden von Farnkräutern, die mit lebhafter Eigenbewegung ausgestattet sind, gegen 0,01- bis 0,5 proz. Lösungen von Apfelsäure. Es zeigte sich, dafs schon nach kürzester Zeit ein zahlreiches Einwandern derselben in Kapillaren stattfand. Die Samenfäden änderten ihre Bewegungsrichtung und bewegten sich nach der Öffnung der Kapillare hin. Enthielt das Wasser nicht eine zu grofse Anzahl davon, so waren mitunter nach ca. 1 Stunde fast alle in das Innere der Kapillare eingedrungen. Mit fortschreitender Diffusion der Apfelsäure nahm die durch sie hervorgerufene Reizwirkung ab. Selbst eine

0,001 proz. Lösung von Apfelsäure rief noch einen deutlich wahrnehmbaren Reiz hervor.

In bezug auf meine Untersuchungen sind die von Pfeffer über das Verhalten der Bakterien angestellten Versuche von weit gröfserem Interesse. Die von ihm zuerst benutzten Arten waren ein gewöhnlicher Fäulnisbazillus und Spirillum undula. Allerdings wandte er diese nicht in Reinkultur an, sondern er hatte ein Gemenge mehrerer Arten, und er benutzte die Flüssigkeit erst dann, wenn die zu untersuchende Art in ihr das Übergewicht hatte. Die Kapillaren von 0,025–0,05 mm inneren Durchmesser wurden mit 1 proz. Fleischextrakt- oder 1 proz. Asparaginlösung zum Teil angefüllt. Wurden sie zu dem die betreffende Bakterienart enthaltenden Tropfen geschoben, so fand eine massenhafte Ansammlung um die Öffnung der Kapillare und ein zahlreiches Eindringen in diese statt. Aufserdem war nach kurzer Zeit am Ende der Flüssigkeitssäule in den Kapillaren eine reichliche Anhäufung von Bakterien zu bemerken, wohin sie aus Verlangen nach Sauerstoff gewandert waren. Beobachtete er das Verhalten an der Öffnung der Kapillaren, so konnte er ein Anstofsen mancher Bakterien an den Rand der Öffnung und eine dadurch hervorgerufene Ablenkung von der Richtung in das Innere der Kapillare feststellen. Begreiflicherweise ist die Möglichkeit des Anstofsens der Bakterien um so gröfser, je enger man die Kapillaren wählt, und infolgedessen wird die Zahl der in die letzteren eindringenden Bakterien mit der Verringerung der Weite ebenfalls abnehmen.

Als Resultat seiner Untersuchungen fand Pfeffer, dafs die Bakterien durch die verschiedensten Nährstoffe angelockt, durch zu hohe Konzentration derselben aber abgestofsen wurden.

Die in seiner zweiten Arbeit [17]) beschriebenen Versuche unterscheiden sich von den eben besprochenen besonders durch die Anwendung von Reinkulturen. Die Weiten der von ihm benutzten Kapillaren waren ungefähr dieselben wie vorher:

0,03—0,06 mm für kleine Bakterien,
0,05—0,08 » » gröfsere »
0,06—0,12 » » gröfsere Organismen.

Ihre Länge betrug ebenfalls 4—7 mm. Die Kapillaren wurden vorher mit der Versuchsflüssigkeit ausgewaschen, indem sie gefüllt und durch entsprechendes Evakuieren 1—2 mal ausgesaugt wurden.

Bei gröfseren Organismen benutzte Pfeffer 30—70fache, bei kleineren 100—200fache Vergröfserung. Mit verschiedenen Bakterienarten bestimmte Pfeffer die Reizwirkungen von zahlreichen anorganischen und organischen Verbindungen. Es gelang ihm die genaue Feststellung der Reizschwelle und die Auffindung der diese Vorgänge beherrschenden Gesetzmäfsigkeiten. Die verschieden starke Reizbarkeit der Bakterien ermöglichte es ihm, eine wenn auch nicht ganz genaue Trennung verschiedener in einem Gemisch enthaltener Bakterienarten auszuführen. Eine empfindliche Art liefs sich in eine Kapillare schon durch schwache Reizmittel einfangen, die auf weniger empfindliche Arten noch keinen Reiz ausübten.

Es hätte mich zu weit geführt, wenn ich diese von Pfeffer angestellten chemotaktischen Untersuchungen in ebenso ausgedehnter Weise mit feineren und allerfeinsten Kapillaren wiederholt haben würde. Für mich hatte nur die Beantwortung der Frage Bedeutung, ob die Bakterien, durch ihnen dargebotene Nährstoffe angelockt, auch in die feinsten Kapillaren eindringen. Bevor ich zur Beschreibung der von mir in dieser Richtung angestellten Versuche übergehe, will ich einige Worte über die Wahl des Glases und die Art und Weise der Herstellung der feinsten Kapillaren vorhergehen lassen.

Die Wahl des Glases.

Anfangs benutzte ich zur Herstellung der Kapillaren Röhren von gewöhnlichem Glas. Da aber bei einer Reihe von Versuchen die Nährlösung wochenlang mit dem Glase in Berührung blieb und ein schädigender Einflufs des letzteren das Resultat in hohem Mafse beeinträchtigt hätte, war es ausgeschlossen, die Kapillaren ohne weitere Behandlung zu den Versuchen zu benutzen. Ich hatte deshalb die Absicht, die von mir hergestellten feinsten Kapillaren, deren feinste einen Durchmesser von nicht ganz

$^1/_{1000}$ mm besafsen, vor dem Gebrauch einer gründlichen Reinigung zu unterziehen. Sie sollteu mit verdünnter Schwefelsäure zwecks Entfernung der auhafteuden Alkalien behandelt, darauf mit destilliertem Wasser ausgespült und bei höherer Temperatur getrocknet werden. Der Versuch lehrte aber, dafs die Ausführung dieser Reinigung mit den gröfsten Schwierigkeiten verbunden, ja geradezu unausführbar zu nennen ist. Um die in die Kapillare eingesaugte Schwefelsäure wieder zu entfernen uud mit destilliertem Wasser jegliche Spuren davon auszuwaschen, bedarf es der Anwendung sehr hoher Drucke. Und selbst bei der Benutzung derartig hoher Drucke würde es lange Zeit dauern, ehe genügend Wasser durch die Kapillareu hindurchgeprefst worden wäre, um die letzten Reste der Schwefelsäure zu entfernen.

Aus diesen Gründen mufste ich von einer vorherigen Reinigung der Kapillaren und damit auch von einer Benutzung des gewöhnlichen Glases absehen. Ich wählte nun zu meinen Versuchen eine Glassorte, deren hoher Wert für bakteriologische Zwecke schon von verschiedenen Seiteu bestätigt worden ist, nämlich das Schottsche Borosilikatglas 59 III. In neuester Zeit führte G. Hesse[5]) Versuche über die Alkaliabgabe verschiedener Gläser aus. Er fand, dafs die Wahl des Glases von grofsem Einflusse auf das Wachstum der Bakterien ist. Nach Hesse kommen im Jenaer Normalglas ungefähr 5—6 mal soviel Keime zur Entwicklung als in gewöhnlichen Gläsern. Ganz besonders günstige Resultate erzielte er aber mit dem wegen seiner äufserst geringen Alkaliabgabe bekannten Schottschen Borosilikatglas 59 III. In Gläsern aus diesem Material hergestellt wuchsen ca. 20—30% mehr Keime aus als in den gewöhnlichen Jenaer Gläsern. Im Vergleich zu den gewöhnlichen Glassorten siud die Vorzüge dieses Glases ganz bedeutend, und aus diesem Grunde glaubte ich es ohne Bedenken bei meinen Versuchen anwenden zu dürfen.

Die Herstellung der Kapillaren.

Zur Ausführung meiner Versuche brauchte ich Kapillareu von gröfster Feiuheit. Der innere Durchmesser der feinsten durfte nicht ganz $^1/_{1000}$ mm betragen. Aufserdem waren aber auch weitere

Kapillaren, deren Durchmesser einige $^1/_{1000}$ mm bis mehr als $^1/_{100}$ mm betrugen, erforderlich.

Von dem Schottschen Borosilikatglas 59 III beschaffte ich mir eine gröfsere Anzahl Stabröhren von kleinstem inneren Durchmesser. Der äufsere Durchmesser derselben schwankte zwischen 4—6 mm, die Öffnung der Kapillaren war gerade noch mit blofsem Auge wahrzunehmen und betrug ca. $^1/_{10}$ mm und darunter. Aus diesen Stabröhren stellte ich mir die Kapillaren auf folgende Weise her. Ich schnitt aus ihnen Stücke von ca. 12 cm Länge, fafste die Enden eines Stückes mit den Händen und erhitzte die Mitte unter beständigem Drehen in der heifsen Flamme einer Gebläselampe. Wurde das Glas rotglühend und fing an zu erweichen, so liefs ich im richtigen Augenblick von einer anderen Person das eine Ende fassen und nahm das Rohr aus der Flamme, nachdem ich dem Betreffenden ein Zeichen gegeben hatte, sich möglichst schnell damit zu entfernen. Das Gelingen hing lediglich von dem rechtzeitigen Herausnehmen aus der Flamme und dem unmittelbar darauf durch den schnellen Lauf der anderen Person in entgegengesetzter Richtung bewirkten Ausziehen ab. Bei der schweren Schmelzbarkeit und Zähigkeit des Barosilikatglases in erweichtem Zustande war ein starkes und langes Erhitzen nötig und es erforderte längere Übung, ehe befriedigende Erfolge erzielt wurden.

Das Sortieren der Kapillaren.

Auf diese Weise erhielt ich Kapillarfäden von ca. 1,5 m Länge, an deren Enden sich noch die Stücke der Stabröhren befanden. Die Stärke der so erhaltenen Kapillaren war äufserst gering, sie betrug im Durchschnitt 0,2—0,4 mm. Das Umgehen damit erforderte aus dem Grunde grofse Vorsicht. Die Messung und das Sortieren der Kapillaren geschah auf folgende Weise.

Die Hauptlänge, nicht ganz $^2/_3$ des durch das Ausziehen erhaltenen Kapillarfadens, war von ungefähr gleichem inneren und äufseren Durchmesser. Die stärkeren, an den Enden befindlichen Teile wurden entfernt und das mittlere Stück in Längen von 10—12 cm zerteilt; doch geschah dies nicht auf einmal,

sondern nachdem der innere Durchmesser des vorhergehenden festgestellt war. Zu diesem Zwecke wurden die Enden des betreffenden Stückes vorsichtig durch kurze Berührung mit der Sparflamme eines Bunsenbrenners zugeschmolzen, um jegliche Verunreinigung des Kapillarinnern durch Immersionsöl usw. auszuschliefsen. Darauf wurde der Kapillarfaden auf einen Objektträger gelegt, in der Mitte mit einem Tropfen Zedernöl versehen und mit der Ölimmersion unter Benutzung eines Okularmikrometers der Durchmesser der Kapillare gemessen. Da zwischen 2—3 Stücken ein nennenswerter Unterschied in der Gröfse des Durchmessers nicht bestand, war es unnötig, alle Stücke einer Messung zu unterwerfen. Die Entfernung des Immersionsöles geschah durch Reinigung der Kapillare mit Benzin und Alkohol.

Die gemessenen Stücke wurden in Reagensgläsern aufbewahrt, die zum Schutze gegen Staub mit Wattestopfen versehen waren. Es gelang mir durch lange fortgesetztes Ausziehen von Kapillaren eine Sammlung der verschiedensten Gröfsen zu erhalten, was für die Ausführung meiner Versuche von gröfstem Wert war. Es waren z. B. Gröfsen von 0,3—2,0 μ aufwärts vorhanden, die sich nur durch $^3/_{10}$ μ unterschieden. Weitere Kapillaren bis ca. 20 μ waren nach Unterschieden von 1,5 μ geordnet.

Die genaue Messung.

Die von mir soeben beschriebene Methode der Messung der Kapillaren war nur eine oberflächliche, deren ich mich nur deshalb bediente, weil es mir in der Hauptsache darauf ankam, die beim Ausziehen erhaltenen Stücke möglichst schnell nach ihrem inneren Durchmesser zu sortieren. Bei den für bestimmte Versuche benutzten Kapillaren bedurfte es allerdings einer weitaus gröfseren Genauigkeit der Messung.

Wegen der Verschiedenheit der Brechungsexponenten des Glases 59 III und des Zedernöles entsprachen die derart erhaltenen Werte nicht ganz der wirklichen Weite. Es war also unbedingt erforderlich, ein Immersionsöl anzuwenden, das den gleichen Brechungsexponenten wie das Borosilikatglas besafs.

Von Schott u. Gen., Jena, wurde mir der Brechungsexponent dieses Glases als

$$n_{Na} = 1{,}4967$$

angegeben. Flüssigkeiten, deren Brechungsexponenten dem angegebenen am nächsten kommen, sind chemisch reines Toluol und Ortho-Xylol mit folgenden Brechungsexponenten:

$$\overset{T}{20^0} \text{ Toluol } n_{Na} = 1{,}4955,$$
$$18^0 \text{ o-Xylol } n_{Na} = 1{,}4966.$$

Es gelang mir, beide Flüssigkeiten in chemisch reinem Zustande zu bekommen. Bei der ziemlichen Übereinstimmung ihrer Brechungsexponenten mit dem des Glases 59 III wandte ich beide als geeignetste Immersionsöle bei meinen genauen Messungen an. Da aber das Toluol und in noch höherem Mafse das o-Xylol in kurzem den aus Kanadabalsam bestehenden Kitt der Immersionslinie aufgelöst und diese zerstört hätte, machte sich eine andere Anordnung als gewöhnlich erforderlich. Um das Toluol resp. o-Xylol von einer Berührung mit der Linse fernzuhalten, deckte ich über die Kapillare ein Deckgläschen und auf dieses brachte ich einen Tropfen Zedernöl, in das ich die Immersionslinse einsenkte. Um dem Deckgläschen einen festen Halt zu geben, legte ich auf beide Seiten darunter parallel zur Kapillare nahe an den Rand zwei weitere Kapillare von derselben Stärke wie jene. Mittels eines Glasstabes brachte ich die betreffende Flüssigkeit tropfenweise unter das Deckglas, und zwar derart, dafs der ganze Raum unter demselben davon erfüllt war. Während einer Messung machte sich allerdings oft wegen des schnellen Verdunstens der betreffenden Flüssigkeiten ein Nachfüllen nötig.

Ich stellte nun zuerst einen Vergleich über die Verschiedenheit der Werte an, die man erhält, wenn man Zedernöl, Toluol oder o-Xylol als Immersionsöl anwendet. Hinsichtlich der das Innere der Kapillare erfüllenden Flüssigkeit erschien es mir am vorteilhaftesten, im ersteren Falle Wasser, in den beiden anderen die betreffenden Flüssigkeiten in gefärbtem Zustande zu nehmen.

Ich färbte sie mit Alkannin, das sich dafür als sehr geeignet erwies und von mir in Form der im Handel befindlichen Paste angewandt wurde.

Ich nahm nun drei Kapillaren von ganz gleichem Durchmesser und liefs in diese die betr. Flüssigkeiten einsaugen. Den inneren Durchmesser der ersteren bestimmte ich, indem ich einen Tropfen Zedernöl auf dieselbe brachte und in der gewöhnlichen Weise eine Messung ausführte. Bei den anderen führte ich die Messung mit Toluol resp. o-Xylol als Immersionsöl aus. Es war in dem Falle äufserst schwierig, das Innere der Kapillaren unter dem Mikroskop einzustellen. Es erforderten diese Messungen aus dem Grunde viel Zeit und es war die Auffindung des Kapillarlumens nur dadurch möglich, dafs zuvor die Grenze von Luft und Flüssigkeit in der Kapillare bei schwacher Vergröfserung aufgesucht wurde. Aufserdem war grofse Vorsicht nötig, damit nicht das Deckgläschen durch ein wenig zu tiefes Senken der Linse zerdrückt wurde. Das Toluol resp. o-Xylol mufste ganz stark gefärbt sein, um ein deutliches Erkennen des Kapillarinnern zu ermöglichen. Der in den Resultaten zutage tretende Unterschied ist z. B.

I.

a) Zedernöl (Zeifs.)	D = 5,2	Teilstriche
b) Toluol	D = 5,5	»
c) o-Xylol	D = 5,5	»

II.

a) Zedernöl	D = 6,6	»
b) Toluol	D = 7,0	»
c) o-Xylol	D = 7,0	»

Wie man aus den Messungen ersehen kann, ist die Differenz eine ziemlich geringe. Es wäre nun eine äufserst zeitraubende Arbeit gewesen, alle Kapillaren für die vielen Versuche mit Toluol resp. o-Xylol als Immersionsöl zu messen. Aus diesem Grunde stellte ich die Durchmesser der Kapillaren durch die unvergleichlich einfachere Messung mit Zedernöl fest und be-

stimmte die genauen Werte durch Proportion oder Multiplikation mit dem sich aus folgenden Proportionen ergebenden Faktor a:

$$5{,}2 : 5{,}5 = 1 : a$$
$$a = 1{,}05$$
$$6{,}6 : 7{,}0 = 1 : a$$
$$a = 1{,}05.$$

Bei Kapillaren von geringer Weite handelte es sich nur um eine äufserst geringfügige Korrektur, z. B.:

Mit Zedernöl: D = 0,8 Teilstrich gemessen
0,8 . 1,05 = 0,84 Teilstrich.

Wenn man bedenkt, dafs es überhaupt nur möglich ist, 0,2 Teilstrich des Mafsstabes annähernd genau zu schätzen, so wäre es übertriebene Genauigkeit, diese Korrektur bei den geringen Weiten anzubringen. Erst wenn diese ca. 0,1 T. beträgt, mufs man sie in Rechnung bringen. Es ist dies aber erst bei Weiten von 2,0 T. an der Fall. Aufserdem mufste ich noch die Skala des von mir zu allen Messungen benutzten Okularmikrometers gegen einen genauen Mafsstab eichen. Es geschah dies durch Vergleichung mit einem in genau 100 Teile geteilten Millimeter von A. Zeifs, Jena. Auf diese Skala, welche sich auf einem Objektträger befand, brachte ich einen Tropfen Zedernöl und las mittels Ölimmersion ab, wie viel Teilstriche des $^1/_{100}$ mm-Mafsstabes den 50 Teilstrichen meines Okularmikrometers entsprachen:

50 T. → 8 T. des $^1/_{100}$ mm-Mafsstabes
1 T. → 0,16 T.

Ich mufste also sämtliche von mir mittels meines Okularmikrometers gemessene Werte mit 1,6 multiplizieren.

Eine andere physikalische Methode zur Bestimmung der inneren Durchmesser der Kapillaren, als die direkte Messung unter dem Mikroskop, war im vorliegenden Falle nicht anwendbar. Die Berechnung des Durchmessers durch Quecksilberwägung oder aus der kapillaren Steighöhe ist erstens wegen der hier vorliegenden Feinheit der Kapillaren und zweitens wegen der Umständlichkeit der Messungen nicht ausführbar.

I. Das Eindringen von Bakterien in feinste mit Nährlösung gefüllte Kapillaren.

Die Versuche über das Eindringen von Bakterien in feinste mit Nährlösung gefüllte Kapillaren führte ich mit denselben Bakterienarten aus, die ich zu den oben beschriebenen Versuchen über das Durchdringen von Kleinfiltern benutzt hatte. Die Weiten der angewandten Kapillaren schwankten zwischen 0,001 und 0,006 mm, während die inneren Durchmesser der von Pfeffer benutzten feinsten Kapillaren 0,025 mm betrugen. Ich führte die Untersuchungen derart aus, dafs ich erst die im Verhältnis zur Gröfse der betreffenden Bakterien ziemlich weiten Kapillaren nahm. Darauf ging ich allmählich zu immer engeren über, bis ich die Grenze des Eindringens erreicht hatte. Die von mir getroffene Anordnung der Versuche war der von Pfeffer beschriebenen sehr ähnlich. Da ich weniger die Bewegungen der Bakterien vor der Kapillaröffnung beobachten, als vielmehr mit möglichster Genauigkeit feststellen wollte, ob und in welchem Grade ein Eindringen derselben in die Kapillare stattfindet, reichten die von Pfeffer angewandten schwächeren Vergröfserungen nicht aus. Es war bei der geringen Weite der Kapillaren unbedingt erforderlich, mit der Ölimmersion die Vorgänge in deren Innern zu beobachten. Aus dem Grunde mufste ich eine andere Anordnung der Versuche treffen. Der geimpfte Wassertropfen durfte mit dem Immersionsöl nicht in Berührung kommen; zu dem Zwecke zog ich quer über den Objektträger einen schmalen Fettstreifen, der die Fläche desselben ungefähr im Verhältnis 1 : 2 teilte. Die 6—8 cm lange Kapillare liefs ich nun durch Eintauchen in die Nährlösung zum Teil vollsaugen, schmolz die eine Seite zu und entfernte die aufsen anhaftende Nährlösung. Alsdann legte ich die Kapillare derart auf den Objektträger, dafs sie den Fettstreifen mit dem offenen Ende ca. $^1/_2$—1 cm überragte. Mit einer kleinen Pipette brachte ich nun einen Tropfen der Bakterienaufschwemmung an die Öffnung der Kapillare und beobachtete auf der anderen Seite des Fettrandes die Vorgänge im Innern derselben. Bei den weiteren

Kapillaren war schon nach kurzer Zeit ein Einwandern der Bakterien zu beobachten. Durch geeignetes Abblenden des Gesichtsfeldes konnte ich jeden in die Kapillare eindringenden Bazillus deutlich erkennen. Die Kapillare wurde zunächst ¼ Stunde lang beobachtet; wenn ich bis dahin keine Einwanderung wahrgenommen hatte, brachte ich die Kapillaren für mehrere Stunden in eine feuchte Kammer. Nach Verlauf dieser Zeit nahm ich sie vom Objektträger, reinigte sie und schmolz das andere Ende ebenfalls zu. Dann durchsuchte ich mit der Öl-immersion die ganze Länge der Kapillare nach Bakterien. Meist waren nach dem Aufenthalt in der feuchten Kammer die Bakterien sämtlich, ihrem Verlangen nach Sauerstoff folgend, nach der am Ende der Kapillare befindlichen Luftblase gewandert.

Am gröfsten war die Möglichkeit des Einwanderns ganz im Anfang. Die Reizwirkung der in der Kapillare befindlichen Nährlösung auf die Bakterien ist anfangs am stärksten und nimmt ab in dem Mafse, wie sich die Diffusionszone in dem geimpften Wassertropfen ausbreitet. Waren also innerhalb einer Stunde keine Bakterien eingedrungen, so geschah dies später um so weniger.

Bei den feinsten Kapillaren war es unbedingt erforderlich, etliche Versuche mit derselben Weite anzustellen, da nur dadurch der Beweis für die Richtigkeit der erzielten Resultate geführt werden konnte. Denn wie ich schon oben erwähnte, ist das Eindringen der Bakterien in feine Kapillaren um so mehr dem Zufall unterworfen, je enger man letztere wählt. Die Möglichkeit des Anstofsens der Bakterien an den Rand der Kapillaröffnung und die Ablenkung von der Bewegungsrichtung in das Innere der Kapillare wird mit Verringerung ihrer Weite immer gröfser.

Die zu den Versuchen benutzten Bakterienarten züchtete ich auf schräg erstarrtem Agar oder Gelatine, und zwar Prodigiosus, die gelben Kokken und den Heubazillus auf Agar, Fluorescens und die Ingwer-Kokken auf Gelatine. Ich benutzte nur möglichst frische Reinkulturen, die nicht älter als 8 Tage waren. Für die Versuche wurde den Kulturen mittels steriler

Platinöse etwas entnommen und mit sterilem Leitungswasser aufgeschwemmt.

Die Gröfsenverhältnisse der von mir benutzten Bakterienarten bestimmte ich in der Weise, dafs ich von den Reinkulturen wiederholt Präparate anfertigte und nach diesen am Ende der Untersuchungen die durchschnittliche Gröfse angab. Es stellte sich allerdings heraus, dafs bei der langen Dauer der Untersuchungen in dieser Beziehung keine Änderung vor sich gegangen war. Zwischen den von mir angewandten Arten bestanden ungefähr die folgenden Gröfsenverhältnisse:

a) Bacillus prodigiosus:	Länge 0,8 — 1,3 μ
	Breite 0,3 — 0,4 »
b) Bacillus fluorescens:	Länge 1,3 — 1,8 »
	Breite 0,3 — 0,4 »
c) Heubazillus:	Länge 2,4 — 5,0 »
	Breite 0,4 — 0,8 »
d) Gelbe Kokken:	D 0,6 — 1,0 »
e) Ingwer-Kokken:	D 0,6 — 1,0 »

Im folgenden will ich kurz die Resultate zusammenstellen, die sich bei der vorliegenden Untersuchung ergaben.

a) Prodigiosus.

Bei der äufserst schnellen Eigenbewegung und der geringen Gröfse des Prodigiosus war es anzunehmen, dafs er in verhältnismäfsig enge Kapillaren eindringen würde, und ich unterliefs aus dem Grunde die Versuche mit weiteren Kapillaren.

Kap. 3,4 μ:	Nach ganz kurzer Zeit Einwanderung in dichten Schwärmen,
» 2,4 » :	Zahlreiche Einwanderung,
» 1,6 » :	Geringe Einwanderung, bei einigen Versuchen keine Einwanderung,
» 1,3 » :	Keine Einwanderung,
» 1,0 » :	Keine Einwanderung.

Die Grenze des Eindringens liegt also für Bacillus prodigiosus bei 1,6 μ.

Da bei der geringen Gröfse des Prodigiosus ein Versehen selbst bei genauester Ausführung der Untersuchungen bei der

Feinheit der Kapillaren von 1,3 μ und 1,0 μ nicht ausgeschlossen wäre, hielt ich einen genaueren Nachweis als das Auge für angebracht. Ich reinigte die beiderseits zugeschmolzenen Kapillaren in absolutem Alkohol, zerbrach sie mit zwei sterilen Pinzetten und brachte die Stücke in sterile Bouillon. Prodigiosus wurde wie früher durch Aufstrich auf Kartoffel nachgewiesen. Das folgende Resultat bewies die Richtigkeit meiner Beobachtungen:

a) Kap. 1,6 μ: Wachstum,
b) » 1,3 »: Kein Wachstum,
c) » 1,0 »: Kein Wachstum.

b) Fluorescens.

Kap. 3,4 μ: Zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Geringe Einwanderung,
» 1,6 »: Sehr geringe Einwanderung.

Bei mehreren Versuchen mit dieser Weite fand keine Einwanderung statt.

Kap. 1,3 μ: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

Die Grenze liegt ebenfalls bei 1,6 μ, trotzdem Fluoreszens gröfser ist als Prodigiosus. Der Beweis für die Richtigkeit der Beobachtungen wurde wie beim Prodigiosus geführt, mit dem Unterschied, dafs die zertrümmerte Kapillare in flüssige Gelatine geworfen wurde. Das Auftreten der grünlichen Fluoreszenz lieferte den genauesten Beweis:

a) Kap. 1,6 μ: Wachstum,
b) » 1,3 »: Kein Wachstum,
c) » 1,0 »: Kein Wachstum.

c) Heubazillus.

Nach der Gröfse des Heubazillus zu urteilen, könnte man glauben, dafs die Grenze des Eindringens für ihn bedeutend höher liegt. Die Versuche zeigten aber, dafs derselbe noch in Kapillaren eindrang, deren Durchmesser ungefähr die Hälfte seiner durchschnittlichen Länge betrugen.

Kap. 6,7 μ: Sehr zahlreiche Einwanderung,
» 5,0 » : Zahlreiche Einwanderung,
» 3,4 » : Mäfsig starke Einwanderung,
» 2,6 » : Geringe Einwanderung,
» 2,3 » : Äufserst geringe Einwanderung,
» 1,9 » : Einwanderung ganz selten,
» 1,6 » : Keine Einwanderung,
» 1,3 » : Keine Einwanderung.

Die Grenze läfst sich beim Heubazillus nicht so genau angeben wie beim Fluorescens und Prodigiosus. Bei Kap. 1,9 μ z. B. war unter mehreren Versuchen nur bei einem einzigen ein Eindringen des Heubazillus wahrzunehmen. Und man kann es auch als einen grofsen Zufall ansehen, wenn sich gerade in eine derartig enge Kapillare ein Bazillus verirrt. Während ich in den weiteren Kapillaren ein Eindringen des Heubazillus in langen Ketten beobachten konnte, waren es meist einzelne kleinere Individuen, die ihren Weg in die engeren Kapillaren fanden.

d) Gelbe Kokken.

Trotz des grofsen Unterschiedes in der Gestalt fand ich für die Kugelform besitzenden Bakterienarten fast die gleichen Verhältnisse. Man könnte glauben, dafs sie, durch ihre Form begünstigt, in noch engere Kapillaren eindringen könnten. Es zeigte sich aber, dafs dies nicht der Fall ist, sondern dafs ich für diese Bakterienarten dieselbe Grenze des Eindringens feststellen konnte wie für Prodigiosus und Fluorescens. Das Eindringen der letzteren in verhältnismäfsig enge Kapillaren ist vor allem ihrer lebhaften Eigenbewegung zuzuschreiben, die bei den Kokken nur äufserst gering oder meist gar nicht vorhanden ist. Die Resultate, die ich mit den beiden von mir benutzten Kokkenarten erhielt, stimmten bei ihrer fast gleichen Gröfse ziemlich übereiu. Doch machte sich in diesem Falle, ähnlich wie oben bei dem Durchwachsen von Kleinfiltern, der Uuterschied bemerkbar, dafs die Ingwer-Kokken in Kapillaren von gleicher Weite zahlreicher und vor allem schneller eindrangen als die gelben Kokken.

Kap. 4,5 μ: Zahlreiche Einwanderung, in Reihen hintereinander angeordnet,
» 4,0 »: Zahlreiche Einwanderung,
» 3,4 »: Wenig zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Geringe Einwanderung,
» 1,9 »: Ganz geringe Einwanderung,
» 1,6 »: Einwanderung sehr selten, in mehreren Fällen nicht beobachtet,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

e) Ingwer-Kokken.

Kap. 4,2 μ: Zahlreiche Einwanderung,
» 3,4 »: Weniger zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Geringere Einwanderung,
» 1,9 »: Geringe Einwanderung,
» 1,6 »: Sehr geringe Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

Ergebnis.

Als wichtigstes Ergebnis dieser Untersuchungen hat sich die Tatsache herausgestellt, dafs ein Eindringen von Bakterien in die feinsten Kapillaren nicht stattfindet. Die Grenze des Eindringens liegt sogar etwas höher als man erwarten könnte. Denn die Bakterien dringen, wie durch die zahlreichen Versuche bewiesen worden ist, schon in Kapillaren von einem Durchmesser nicht mehr ein, der gröfser ist als ihre Breite, in welchen ihr Körper also noch bequem Raum hätte.

II. Das Einsaugen von Bakterien in leere Kapillaren.

Bekanntlich wird eine Flüssigkeit um so stärker in eine Kapillare eingesaugt, je kleiner ihr Durchmesser ist. Man könnte sich nun die Frage vorlegen: Welche Umstände treten ein, wenn man eine leere Kapillare zu einer Aufschwemmung von Bakterien bringt? Werden die Bakterien selbst in ganz feine Kapillaren eingesaugt oder widerstreben sie dem Eintritt in das Kapillarinnere? Die genaue

Beantwortung dieser Frage auf experimentellem Wege schien mir von grofsem Interesse, da man sich über diesen Vorgang gänzlich im Unklaren befindet und nur Vermutungen darüber aufstellen kann.

Ich führte die Versuche derart aus, dafs ich fast dieselbe Anordnung wie bei den soeben beschriebenen Untersuchungen über das Eindringen der Bakterien in mit Nährlösung gefüllte Kapillaren traf. Unter dem Mikroskop stellte ich das Innere der leeren, beiderseits offenen Kapillare ein, brachte einen Tropfen der Bakterienaufschwemmung an ihre Öffnung und beobachtete, ob in der eingesaugten Flüssigkeit Bakterien vorhanden waren. Um an der entgegengesetzten Seite ein Eindringen von Immersionsöl in die offene Kapillare zu verhindern, mufste dieses Ende etwas über den Objektträger hinausragen. Nach beendigter Beobachtung wurde die Kapillare beiderseits zugeschmolzen und nochmals in ihrer ganzen Länge genau auf das Vorhandensein von Bakterien geprüft. Im vorliegenden Falle war besonderes Gewicht darauf zu legen, dafs die Flüssigkeit eine möglichst grofse Anzahl von Bakterien enthielt, da dadurch die Genauigkeit der Beobachtungen bedeutend erhöht wurde. Denn je mehr Bakterien in der Flüssigkeit enthalten waren, desto gröfser wurde die Möglichkeit des Eindringens in die Kapillaren. Ich nahm deshalb bedeutend mehr Bakterienmaterial als bei den vorhergehenden Versuchen und benutzte Aufschwemmungen, die eine starke milchige Trübung zeigten. Wie ich an späterer Stelle bei anderen Versuchen fand, enthielt 1 ccm dieser Aufschwemmungen viele Millionen Keime. Mit den feinsten Kapillaren führte ich eine gröfsere Anzahl von Versuchen aus, um die Grenze des Eindringens mit Sicherheit feststellen zu können. Aufser den von mir vorher benutzten Bakterienarten stellte ich diese Versuche noch mit zwei Hefearten an, die ich auf Bierwürzegelatine züchtete. Die Hefe 740 hatte eine kurze, runde, die Hefe Saaz eine lange, schmale Form. Beide Hefen stammten aus dem Hefereinzuchtlaboratorium von Lindner, Berlin. Die Gröfsenverhältnisse dieser Hefen waren ungefähr folgende:

	Hefe 740	Hefe-Saaz
Länge	4,0 — 8,0 μ	4,0 — 9,6 μ
Breite	3,2 — 4,0 »	2,4 — 3,2 »

Die speziellen, mit den verschiedenen Bakterienarten gemachten Beobachtungen will ich im folgenden kurz anführen:

a) **Prodigiosus.**

Kap. 3,4 μ: Äußerst zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Weniger zahlreiche Einwanderung,
» 1,6 »: Ganz geringe Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

Wie bei den vorigen Versuchen mit Prodigiosus hielt ich es auch hier für nötig, bei seiner geringen Gröfse die Sicherheit des Ergebnisses durch den kulturellen Nachweis zu erhärten. Ich schmolz nach den Versuchen die Kapillaren beiderseits zu, reinigte sie in absolutem Alkohol, zertrümmerte sie mit sterilen Pinzetten und warf die Stücke in sterile Bouillon. Es bestätigten sich die von mir gemachten Beobachtungen:

Kap 1,6 μ: Wachstum,
» 1,3 »: Kein Wachstum,
» 1,0 »: Kein Wachstum.

b) **Fluorescens.**

Kap. 3,4 μ: Äußerst zahlreiche Einwanderung,
» 2,3 »: Weniger zahlreiche Einwanderung,
» 1,6 »: Geringe Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

Der Nachweis nach der oben angegebenen Art lieferte folgendes Resultat:

Kap. 1,6 μ: Wachstum,
» 1,3 »: Kein Wachstum,
» 1,0 »: Kein Wachstum.

c) Heubazillus.

Kap. 5,6 μ: Äufserst zahlreiche Einwanderung,
» 4,2 »: Geringe Einwandernng,
» 3,4 »: Sehr geringe Einwanderung,
» 2,3 »: Nur selten Einwanderung,
» 1,6 »: Keine Einwanderung,
« 1,3 »: Keine Einwanderung.

In mehreren der mit Kapillaren von 2,3 μ angestellten Versuche fand kein Eindringen von Bakterien statt. Von Interesse ist die von mir in den weiteren Kapillaren manchmal beobachtete Erscheinung, dafs ein Bazillus in der Kapillare umkehrte und wieder nach der Öffnung zurückwanderte.

d) Gelbe Kokken.

Kap. 2,7 μ: Zahlreiche Einwanderung,
» 2,3 »: Geringe Einwanderung,
» 1,9 »: Sehr geringe Einwanderung,
» 1,6 »: Einwanderung selten,
» 1,3 »: Keine Einwandernng,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

e) Ingwer-Kokken.

Kap. 3,4 μ: Sehr zahlreiche Einwanderung,
» 2,4 »: Zahlreiche Einwandernng,
» 1,6 »: Geringe Einwanderung,
» 1,3 »: Keine Einwanderung,
» 1,0 »: Keine Einwanderung.

f) Hefe 740.

Kap. 8,3 μ: Geringe Einwanderung,
» 6,7 »: Sehr geringe Einwanderung,
» 5,0 »: Äufserst geringe Einwanderung,
» 4,2 »: Keine Einwanderung,
» 3,4 »: Keine Einwandernng.

g) Hefe-Saaz.

Kap. 6,7 μ: Zahlreiche Einwanderung,
» 5,0 »: Geringe Einwanderung,
» 4,2 »: Ganz geringe Einwanderung,
» 3,4 »: Keine Einwanderung,
» 2,4 »: Keine Einwanderung.

Bei den mit den Hefen angestellten Versuchen kam oft eine Verstopfung der Kapillaren vor.

Ergebnis.

Vergleicht man die Ergebnisse dieser Versuchsreihe mit denen der vorigen, so bemerkt man eine auffällige Übereinstimmung. Ich stellte für die Einschwemmung der Bakterien in leere Kapillaren dieselben Grenzen fest, die ich vorher für das freiwillige Eindringen der Bakterien in Kapillaren ermittelt hatte, die mit Nährlösung gefüllt waren. Aus den erhaltenen Resultaten kann man den Schlufs ziehen, dafs die Bakterien dem Einschwemmen in die feinsten Kapillaren einen gewissen Widerstand entgegensetzen. Sie folgen nicht einfach der eindringenden Flüssigkeit, sondern man kann sich die Vorstellung machen, dafs sie sich an dem Rand der Kapillaröffnung festklammern. Das Ergebnis dieser Versuche läfst sich dahin zusammenfassen, dafs ein Einsaugen der Bakterien in leere Kapillaren, deren Durchmesser unterhalb der von mir bestimmten Grenze von 1,6 μ liegen, nicht stattfindet.

III. Über die Zeiten, in denen verschieden starke Kapillaren von Bakterien durchdrungen werden.

Solange es sich darum handelt, das durch die Reizwirkung eines Nährstoffes hervorgerufene Eindringen von Bakterien in feine Kapillaren zu beobachten, genügt die von mir oben beschriebene Methode vollkommen. Es zeigte sich, dafs die Möglichkeit des Eindringens zuerst am gröfsten ist, mit der durch die Diffusion des Nährstoffes hervorgerufenen Ausdehnung der Reizzone aber schnell abnimmt. Eine lange Beobachtungsdauer kam also bei diesen Versuchen nicht in Frage.

Sollen aber nun die Verhältnisse erforscht werden, die eintreten, wenn die Bakterien sich bereits in einer Nährlösung befinden, und zu dieser eine mit der gleichen Nährlösung gefüllte Kapillare gebracht wird, so kann man sich der obigen Versuchsanordnung nicht mehr bedienen. Es läfst sich voraussagen, dafs die Zeit, in welcher ein Durchwandern der Kapillaren durch die

Bakterien erfolgt, eine viel längere sein wird als in dem Falle, wo ein auf die Bakterien ausgeübter Reiz das Eindringen in die Kapillaren hervorrief. Die Kapillaren, in welche die Bakterien gar nicht oder nur selten durch den von dem Nährstoff ausgeübten Reiz hineingelockt wurden, werden hier nicht in Betracht kommen, sondern nur jene, in welchen eine zahlreiche Einwanderung beobachtet wurde.

Da die Dauer einiger Untersuchungen ca. 30 Tage betrug, machte sich eine Anordnung der Versuche erforderlich, die diesem Umstande genügend Rechnung trug. Die Beobachtung mit dem Mikroskop war von vornherein ausgeschlossen, es mufste mit dem unbewaffneten Auge möglich sein, den Gang der Versuche zu verfolgen. Um dieser Forderung in vollem Mafse gerecht zu werden, konstruierte ich den in Fig. 2 dargestellten Apparat.

Die beiden mit den Ansatzröhrchen *a* und *b* versehenen Reagensgläser *A* und *B* liefs ich mir, um die oben erwähnten schädigenden Einflüsse gewöhnlicher Gläser auszuschliefsen, aus dem Schott-schen Borosilikatglas 59 III herstellen. Besonders die lange, bis zu 1 Monat betragende Dauer einiger Versuche veranlafste mich zu dieser Vorsicht. Um diese beiden Gläser gut befestigen zu können, nahm ich zwei schmale Bandeisen, zwischen welche ich die Gläser durch eine in der Mitte befindliche Schraube festklemmen konnte. Um ein Zerdrücken der Gläser zu verhüten, umgab ich sie unten mit Streifen dicken Tuches. Es mufsten nun die Gefäfse *A* und *B* durch die feinen Kapillaren von verschiedenen Weiten verbunden werden. Die Befestigung der Kapillaren in den Ansatzröhrchen *a* und *b* bereitete mir zuerst grofse Schwierigkeiten. Kleine Gummistopfen erwiesen sich aus dem Grunde als untauglich, weil beim Einsetzen derselben die Kapillaren zerbrachen. Aufserdem war es wegen der

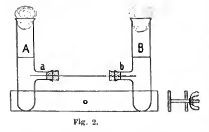


Fig. 2.

Elastizität des Gummis schwierig, die Kapillaren durch die Bohrung der Gummistopfen hindurchzustecken ohne sie zu zerbrechen. Am besten bewährten sich kleine, etwas konisch zulaufende Korke von möglichst fehlerfreier Beschaffenheit. Diesen brachte ich mittels einer feinen Nadel eine Bohrung von solcher Weite bei, daſs sich die Kapillaren ohne Druck bequem hindurchstecken lieſsen. Die Korke wurden vor Gebrauch, um etwa in ihnen enthaltene Sporen abzutöten, ca. 1 Stunde auf 120° erhitzt. Die Versuche wurden mit diesem Apparat folgendermaſsen ausgeführt.

Die beiden Gläser *A* und *B* wurden mit passenden Korken und Wattebausch versehen und locker im Stativ befestigt. Die für den betreffenden Versuch bestimmte Kapillare, die beiderseits zugeschmolzen und genau gemessen war, wurde sorgfältig gereinigt und zuerst durch den einen Kork gesteckt. Nun erst wurde das zugeschmolzene Ende abgebrochen, der Kork in dem Röhrchen *a* befestigt und dasselbe auf der anderen Seite wiederholt. Das Befestigen der Kapillare in dem zweiten Kork und das Einstecken desselben in das Röhrchen *b* erforderte sehr groſse Vorsicht, da bei einer etwas zu starken Neigung eines der beiden Gläser ein Zerbrechen der Kapillare erfolgte. Dadurch, daſs die zugeschmolzenen Enden der Kapillare erst abgebrochen wurden, nachdem diese durch die Korke gesteckt war, wurde jegliche Verunreinigung oder Verstopfung des Kapillarinnern ausgeschlossen. Es war nun wegen der leichten Zerbrechlichkeit der Kapillaren unmöglich, die Korke so fest in die Ansatzröhrchen hineinzupressen, daſs ein vollkommen dichter Verschluſs erreicht wurde. Als bestes Mittel zum Abdichten erwies sich Kollodium. Vor dem Überziehen der Korke mit Kollodium wurde der Apparat ca. 1 Stunde bei 120° erhitzt. Die Nachteile, welche das Sterilisieren des mit Nährlösung gefüllten Apparates im strömenden Dampf mit sich brachte, veranlaſsten mich, den Apparat in leerem Zustande durch trockene Hitze zu sterilisieren. Durch die Einwirkung des Dampfes wurde vor allem die Flüssigkeitssäule in der Kapillare zertrennt, so daſs von vornherein ein Gelingen der Versuche ausgeschlossen war.

Allerdings mufste nun das Füllen der Apparate mit Nährlösung in einer Weise vorgenommen werden, die jegliche Verunreinigung durch Luftkeime ausschlofs. Zu dem Zwecke führte ich diese Operation in einer sterilen Kammer aus, einem Glaskasten, dessen vordere Wand beweglich war, um die Arbeiten im Innern bequem verrichten zu können. Die Apparate wurden etwas schräg gestellt, die eine Seite mit Nährlösung gefüllt, und so einige Stunden stehen gelassen, damit die Flüssigkeit bestimmt bis an das Ende der Kapillare laufen sollte. Dann erst wurde die andere Seite mit Nährlösung beschickt. Eine Verunreinigung durch das Hineinfallen fremder Keime während des Füllens trat bei der grofsen Anzahl der von mir angestellten Versuche nicht ein einziges Mal ein. Hingegen mifsglückte ein beträchtlicher Teil deshalb, weil die Kapillaren nicht vollkommen mit Flüssigkeit angefüllt waren. Um dies möglichst zu vermeiden, stellte ich in dem noch nicht gefüllten Röhrchen des Apparates durch Saugen mit der Wasserluftpumpe einen luftverdünnten Raum her. Doch auch dies war nicht immer von Erfolg begleitet und das Gelingen der Versuche war deshalb sehr vom Zufall abhängig. In der sterilen Kammer wurde die eine Seite des Apparates mit einer Öse Bakterienmaterial geimpft, gut umgeschüttelt und in den Brutschrank gebracht.

Die angesetzten Versuche wurden täglich einer genauen Musterung unterworfen. War in dem nicht geimpften Röhrchen Wachstum eingetreten, so wurde die betreffende Bakterienart, die zu dem Versuche benutzt worden war, in der oben beschriebenen Weise nachgewiesen. Der Apparat wurde auseinandergenommen und die Kapillare zur Kontrolle nochmals genau gemessen.

Ich benutzte wiederum dieselben Bakterienarten und Hefen, wie bei den vorhergehenden Versuchen über das Einsaugen in leere Kapillaren. Für die verschiedenen Arten suchte ich zuerst die Durchmesser der Kapillaren festzustellen, für welche die Dauer des Durchdringens nur ca. 1 Tag betrug. Ich stellte dann Versuche mit immer engeren Kapillaren an, bis ich schliefslich die Weite fand, bei der selbst nach 30 Tagen kein Wachstum in

dem nicht geimpften Röhrchen eintrat. Ein Haupterfordernis für die Erzielung genauer Resultate bestand darin, dafs die Versuche mit ein und derselben Bakterienart unter ganz gleichen Bedingungen ausgeführt wurden. Vor allem mufste zu einer Versuchsreihe stets nur dieselbe Nährlösung genommen werden, da sonst eine wesentliche Veränderung der Resultate eingetreten wäre, die eine Anstellung von Vergleichen ausgeschlossen hätte.

Um genauere Resultate zu erhalten, impfte ich zu Beginn der Versuche auf der einen Seite des Apparates soviel Bakterienmaterial ein, dafs schon nach wenigen Stunden kräftigstes Wachstum eintrat. Bei den Versuchen mit den Hefen rechnete ich den Beginn von dem Zeitpunkte an, wo lebhafte Gasentwicklung eingetreten war. Die mit Hefen angesetzten Apparate blieben bei Zimmertemperatur (20° C) stehen.

Die so erhaltenen Resultate sind für die angewandten Arten in hohem Mafse charakteristisch. Ich will sie in der folgenden Übersicht zusammenstellen.

a) Prodigiosus.

Kap. 5,4 μ ⟶ 1 Tag,
» 4,5 » ⟶ 2 Tage,
» 4,2 » ⟶ 4 »
» 3,4 » ⟶ 12 »
» 2,4 » ⟶ 26 »
» 1,9 » ⟶ mehr als 30 Tage.

b) Fluorescens.

Kap. 6,7 μ ⟶ 1 Tag,
» 5,0 » ⟶ 2 Tage,
» 3,8 » ⟶ 10 »
» 2,4 » ⟶ mehr als 30 Tage.

c) Heubazillus.

Kap. 13,1 μ ⟶ 1 Tag,
» 9,7 » ⟶ 3 Tage,
» 8,3 » ⟶ 12 »
» 7,5 » ⟶ 23 »
» 5,0 » ⟶ 34 »

d) Ingwer-Kokken.

Kap. 13,1 μ ⟶ 1 Tag,
» 10,0 » ⟶ 2 Tage,
» 8,3 » ⟶ 6 »
» 5,0 » ⟶ 8 »
» 3,4 » ⟶ mehr als 30 Tage.

e) Gelbe Kokken.

Kap. 16,8 μ ⟶ 1 Tag,
» 12,5 » ⟶ 3 Tage,
» 10,0 » ⟶ 6 »
» 8,0 » ⟶ 7 »
» 6,7 » ⟶ 8 »
» 5,0 » ⟶ 11 »
» 3,1 » ⟶ mehr als 30 Tage.

f) Hefe 740.

Kap. 32,0 μ ⟶ 3 Tage,
» 23,5 » ⟶ 4 »
» 15,7 » ⟶ 5 »
» 13,4 » ⟶ 7 »
» 11,3 » ⟶ 20 »
» 7,5 » ⟶ 30 »

g) Hefe-Saaz.

Kap. 25,3 μ → 4 Tage,
» 16,0 » → 5 »
» 13,4 » → 12 »
» 9,3 » → 20 »
» 7,5 » → 28 »

Die vorstehenden Ergebnisse zeigen deutlich, wie mit Verringerung des Durchmessers der Kapillaren eine rasche Zunahme der Dauer des Durchwanderns stattfindet. Die Länge der Kapillaren betrug im Durchschnitt 8 cm. Der Weg, den die Bakterien zurückzulegen hatten, war also im Vergleich zu ihrer Gröfse von ganz beträchtlicher Länge. Die Ergebnisse der Versuche lassen ferner den grofsen Einflufs der Bewegungsfähigkeit und Gröfse der angewandten Bakterienarten deutlich erkennen. Der kleine und mit lebhafter Eigenbewegung versehene Bacillus prodigiosus durchwandert die Kapillaren im Vergleich zu den anderen Arten in der kürzesten Zeit. Der gröfste von allen, der Heubazillus, wächst durch dieselbe Kapillare in 34 Tagen, durch welche Prodigiosus in 2 Tagen gelangt.

Die von manchen Forschern gemachte Angabe, dafs verschiedene Kokkenarten nur zeitweise Eigenbewegung besitzen und dies in hohem Grade von der Beschaffenheit des Nährbodens abhängig ist, fand ich bei meinen Versuchen mit den Ingwerkokken bestätigt. Aufser den oben von mir für diese Bakterienart angegebenen Zeiten erhielt ich gegen Ende meiner Untersuchungen einige Resultate, die mit den ersteren nicht im geringsten übereinstimmten. Es durchwanderten z. B. die Ingwer-Kokken eine Kapillare von 4,2 μ in 4 Tagen und von 6,7 μ in 1 Tage, also ebenso schnell wie Prodigiosus und Fluoreszenz. Während die Ingwer-Kokken bei der ersten Versuchsreihe fast das gleiche Verhalten wie die gelben Kokken gezeigt hatten, traten bei Anwendung einer anderen, ihnen offenbar mehr zusagenden Nährlösung ganz andere Erscheinungen zutage. Durch diese Beobachtung findet auch der bei meinen Versuchen über das Durchwachsen von Kleinfiltern zwischen den beiden Kokkenarten festgestellte Unterschied vollkommene Aufklärung.

IV. Über den Einflufs höherer Drucke auf das Eindringen von Bakterien in feinste Kapillaren.

Die bis jetzt von mir beschriebenen Versuche sind alle unter gewöhnlichen Druckverhältnissen ausgeführt worden. Da es aber von grofsem Interesse ist, den Einflufs höherer Drucke auf das Eindringen von Bakterien in feinste Kapillaren genau festzustellen, stellte ich auch nach dieser Richtung hin Versuche an. Es handelte sich also um die Beantwortung der für die Theorie der Filtration überaus wichtigen Frage, ob durch Anwendung höherer Drucke Bakterien auch durch die engsten Kapillaren hindurchgeprefst werden.

Ich hatte anfangs die Absicht, die Versuche nicht wie bisher mit einer einzigen Kapillare anzustellen, sondern durch Vereinigung einer grofsen Anzahl feinster Kapillaren einen Apparat zu konstruieren, den man ein absolut keimfrei arbeitendes Filter nennen könnte. Von den beiden Apparaten, die ich zu diesem Zwecke herstellte, war der eine aus 50, der andere aus ca. 100 Kapillaren zusammengesetzt. Ich wählte Kapillaren von einer Weite, die nach den bei den oben beschriebenen Versuchen gemachten Erfahrungen auf keinen Fall den Bakterien den Durchgang gestatteten. Die dazu benutzten Kapillaren wurden vorher sorgfältig gemessen, mit absolutem Alkohol gereinigt und durch eine flache Korkscheibe gesteckt, die im unteren Teile eines ca 12 cm langen und 8 cm weiten Glaszylinders befestigt war. Mit Kollodium wurden die Kapillaren eingekittet und aufserdem auf beiden Seiten der Korkscheibe eine ca. 2 cm starke Paraffinschicht aufgetragen, die ein Durchwachsen der Bakterien durch etwaige, von dem Kollodium noch nicht verstopfte Poren des Korkes gänzlich ausschliefsen sollte. Nach dem Erstarren des Paraffins wurden die Enden der Kapillaren vorsichtig mit einer sterilen Zange abgebrochen, der Apparat mit einem ca. 2,5 m langen Steigrohr versehen und mit der Bakterienaufschwemmung gefüllt. Es zeigte sich, dafs bei dem Drucke dieser Wassersäule mit dem blofsen Auge nicht die geringste Tröpfchenbildung

an den Kapillaren zu beobachten war. Wohl aber konnte ich unter dem Mikroskop an einigen abgebrochenen Kapillaren feststellen, dafs sie bis an das Ende mit Flüssigkeit gefüllt waren. Um etwa in die Kapillaren eingedrungene Bakterien nachzuweisen, liefs ich die Kapillaren in eine kleine, vor Luftinfektion geschützte Schale mit sterilem Leitungswasser eintauchen. Nach ca. 24stündiger Dauer des Versuches gofs ich von dem in dem Schälchen befindlichen Wasser einige Platten, auf welchen ich selbst nach 8 Tagen keine Kolonien des betreffenden Bazillus bemerkte.

Leider erlaubte mir die Konstruktiou des Apparates nicht, den Eiuflufs höherer Drucke durch Versuche festzustellen. Aber nicht nur dieser Umstand, sondern vor allem die mannigfachen Nachteile dieser Versuchsanordnung im allgemeinen veranlafsten mich, den beschrittenen Weg zu verlassen und die Versuche wie früher mit nur einer Kapillare anzustellen. So günstig es auch wäre, die Untersuchungen gleichzeitig mit mehreren Kapillaren von demselben Durchmesser auszuführen, verbietet sich dies besonders aus dem Grunde, weil ein solcher Apparat nicht übersichtlich ist und einwandfreie Resultate mit ihm nicht erzielt werden können. Vou vornherein ist die senkrechte Stellung der Kapillaren auszuschliefsen, weil bei der geringsten Undichtheit, die namentlich bei Anwendung höherer Drucke trotz gröfster Sorgfalt beim Einkitten der Kapillaren nicht zu vermeiden ist, die Bakterien mit einem aufsen an der Kapillare herunterfliefsenden Tropfen in das Filtrat gelangen können. Es geht also aus dieseu Überlegungeu zur Genüge hervor, dafs man einwandfreie Resultate bei diesen Versuchen nur dann erzielen kann, wenn man nur eine Kapillare benutzt und diese in horizontaler Lage anbringt.

Die Anwendung eines geringeren Druckes, als er uns in dem Leitungsnetz der städtischen Wasserleitung zur Verfügung steht, hielt ich für überflüssig, und ich ging dazu über, den Einflufs dieses ca. 3 Atm. betragenden Druckes durch eine gröfsere Anzahl von Versuchen festzustellen.

a) **Wasserleitungsdruck.**

Um allen soeben erwähnten Anforderungen gerecht zu werden, konstruierte ich den in Fig. 3 dargestellten Apparat. Aus einem dickwandigen Glasrohr von ca. 1 cm äufseren Durchmesser bog ich mir das bajonnetförmige Rohr *A*, welches bei *B* mit einer Einschnürung versehen ist, um ein Abgleiten des Gummischlauches zu verhindern, durch den ein nach dem Wasserleitungshahn führendes, dünnes Bleirohr mit dem Apparat verbunden wurde. Der Gummischlauch wurde durch Anziehen einiger um ihn gelegter Drahtschlingen sicher befestigt. Bei *C* zog ich das Rohr zu einer dünnen, langen Spitze aus, in deren Ende die Kapillaren eingekittet wurden. Das Einkitten geschah

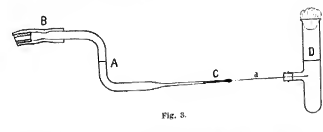


Fig. 3.

mit Schellack und wurde folgendermafsen ausgeführt. Die für den betreffenden Versuch bestimmte, genau gemessene und gut gereinigte Kapillare wurde nach Abbrechen des einen zugeschmolzenen Endes ca. 2—3 cm tief in das dünne Rohr *C* gesteckt. Darauf brachte ich in einem kleinen Röhrchen fein gepulverten braunen Schellack zum Schmelzen und gofs einen Tropfen an die Öffnung des dünnen Rohrs. Durch vorsichtiges Nähern an die Sparflamme eines Bunsenbrenners bewirkte ich, dafs der Schellack einige Millimeter weit in das Rohr *C* eindrang. Nach diesem brachte ich noch einen Tropfen Schellack daran, den ich durch vorsichtiges Erwärmen und beständiges Drehen gut verteilte, so dafs ich dadurch einen ganz sicheren Abschlufs erreichte. Ein Verstopfen der in dem Rohre *C* befindlichen Öffnung der Kapillare trat bei Anwendung der nötigen Vorsicht nicht ein einziges Mal ein. Wohl aber war das Erwärmen in der Nähe

der Flamme insofern sehr gefährlich, als bei einem zu starken Nähern die dünne Kapillare erweichte und sofort herunterknickte. Analog den oben beschriebenen Versuchen begann ich auch hier mit weiteren Kapillaren und ging allmählig zu immer engeren über, bis ich schliefslich die Grenze des Eindringens fand, die ich durch mehrere Versuche genau feststellte.

War die Kapillare in das Rohr *C* eingekittet, so füllte ich dasselbe zum Teil mit einer starken Aufschwemmung der betreffenden Bakterienart in sterilisiertem Leitungswasser. Durch Schütteln des Rohres entfernte ich die Luftblasen aus seiner Spitze, spannte es in ein Stativ ein und stellte die Verbindung mit der Wasserleitung her. Vorher brachte ich noch in das Ende *B* des Rohres *A* einen kleinen Wattebausch, um ein Hineingelangen von Gummiteilchen etc. zu verhindern. An einem andern Stativ befestigte ich ein steriles, mit durchbohrtem Kork versehenes Borosilikatröhrchen *D* von derselben Form, wie ich sie bei den Versuchen mit gewöhnlichem Druck benutzte. Dieses klemmte ich derart ein, dafs die Kapillare und die Bohrung des Korkes in genau derselben Linie lagen. Nun reinigte ich die Kapillare noch einmal mit absolutem Alkohol und entfernte dann den Kork aus dem Ansatzröhrchen, ohne jedoch den nach innen gerichteten Teil des letzteren mit den Fingern zu berühren. Mit einer sterilen Nadel erweiterte ich die Bohrung des Korkes ein wenig, schob ihn über die Kapillare und brach nun deren zugeschmolzenes Ende ab. Das Befestigen des Korkes in dem Ansatzröhrchen mufste mit gröfster Vorsicht vorgenommen werden, da bei einer etwas zu starken Biegung die Kapillare sofort zerbrach. In dem Falle blieb nichts anderes übrig, als eine neue Kapillare einzukitten, nachdem das Rohr *C* gut getrocknet war. Gewöhnlich hielt ich jedoch, um mehrere Versuche hintereinander ausführen zu können, etliche Rohre vorrätig.

Es bedurfte der Ausführung einer grofsen Anzahl von Versuchen, um die Zusammenstellung des Apparates mit der nötigen Sicherheit bewerkstelligen zu können. War der Apparat fertig und der Kork mit Kollodium gut abgedichtet, so wurde der Wasserleitungshahn geöffnet. Das Einfüllen der Nährlösung in *D*

geschah erst nach einigen Minuten, und zwar deshalb, um erst die in der Kapillare befindliche Luft zu verdrängen. Die Dauer eines Versuches betrug ca. 15 Minuten. Trotz der grofsen Genauigkeit, mit der das Einkitten der Kapillaren vorgenommen wurde, war doch in manchen, bei Anwendung dieses geringen Druckes allerdings seltenen Fällen eine Tropfenbildung an der Kittstelle zu bemerken. Es zeigte dies, von wie grofsem Vorteil die von mir benutzte Stellung der Kapillaren gegenüber der senkrechten ist. Bei der letzteren hätte der Tropfen seinen Weg in die Nährlösung nehmen können, während dies jetzt gänzlich ausgeschlossen war. Die Tropfen fielen senkrecht hinunter, ohne sich auch nur ein Stück an der Kapillare entlang fortzubewegen.

Nach Beendigung eines Versuches wurde die Kapillare bei *a* zerbrochen, zugeschmolzen und das Röhrchen *D* in den Brutschrank gestellt. Bei den mit dem Heubazillus angesetzten Versuchen blieben die Röhrchen mindestens 10 Tage stehen. Es wurde übrigens wegen des langsamen Wachstums desselben als Nährlösung nicht Bouillon, sondern Gelatine benutzt. Bei den anderen Arten trat gewöhnlich schon nach 1—2 Tagen Wachstum ein. Die Hefen zeigten bei Zimmertemperatur auch erst nach ca. 10 Tagen deutliches Wachstum.

Den Nachweis der betreffenden Bakterienarten führte ich in derselben Weise wie oben. Nach Beendigung des Versuches wurden die Kapillaren aus dem Korke durch vorsichtiges Eindrücken der Kollodiumhaut entfernt, gut gereinigt und das offene Ende zugeschmolzen. Unter dem Mikroskop wurde nun die Kapillare nochmals genau gemessen und vor allem festgestellt, ob die Flüssigkeit die ganze Kapillare erfüllte. War dies nicht der Fall, so wurde der Versuch als ungültig betrachtet.

Keimzahl der Aufschwemmungen.

Die für die Versuche benutzten Bakterienaufschwemmungen mufsten eine sehr grofse Anzahl von Keimen enthalten. Ich nahm möglichst frische, ca. 8—14 Tage alte Kulturen, deren Belag ich mit sterilisiertem Leitungswasser aufschwemmte. Um ein Verstopfen der Kapillaren durch gröbere, zusammen-

hängende Bakterienmassen zu verhüten, filtrierte ich die Aufschwemmungen durch dünnes Fliefspapier. Während dies bei den übrigen Bakterienarten eine wesentliche Veränderung der Keimzahl nicht herbeiführte, enthielt die Aufschwemmung des Heubazillus nach dem Filtrieren nur ungefähr den zehnten Teil der erst darin befindlichen Keime. Die Ursache hierfür ist in der Kettenbildung des Heubazillus und der damit zusammenhängenden Bildung von festeren Massen zu suchen. Ich mufste aus diesem Grunde ein Filtrieren der Aufschwemmungen des Heubazillus unterlassen.

Die Keimzahl der Aufschwemmungen bestimmte ich jedesmal durch das Plattenverfahren. Da diese ungeheuer viel Keime enthielten, entnahm ich denselben nur $^1/_{10}$ ccm, verdünnte diese Menge mit 100 ccm Wasser und gofs mit $^1/_{10}$ ccm dieser Verdünnung eine Platte. Die so festgestellten Keimzahlen bezifferten sich pro Kubikzentimeter bis auf mehrere hundert Millionen. Für die Genauigkeit der erhaltenen Resultate war dies meines Erachtens von gröfster Bedeutung.

Die mit den Hefekulturen hergestellten Aufschwemmungen filtrierte ich nicht, sondern benutzte sie nach Absetzenlassen der gröberen Bestandteile ohne weiteres zu den Versuchen. Allerdings hatte dies oft ein Verstopfen der Kapillaren zur Folge und erforderte die Ausführung einer gröfseren Anzahl von Versuchen.

Ergebnis.

Es wäre nun zu erwarten gewesen, dafs unter der Einwirkung des Wasserleitungsdruckes die Bakterien durch bedeutend feinere Kapillaren hindurchgeprefst würden, als sich bei dem Einsaugen in leere Kapillaren herausgestellt hatte. Merkwürdigerweise ist dies aber keineswegs der Fall. Es gelang mir, durch eine grofse Anzahl von Versuchen den Beweis zu liefern, dafs für die vorliegenden Untersuchungen mit Wasserleitungsdruck die Grenzen des Eindringens für die einzelnen Arten genau dieselben sind wie bei dem Einsaugen in leere Kapillaren. Es ergab sich die überraschende Tatsache, dafs dieser Druck von ca. 3 Atm. es nicht

vermag, die Bakterien durch feinere Kapillaren hindurchzupressen. Die Ergebnisse der Versuche will ich in der folgenden Tabelle wiedergeben und zum Vergleich die Resultate der anderen Versuchsreihe gegenüberstellen.

Wasserleitungsdruck.	**Einsaugen in leere Kapillaren.**
a) Prodigiosus.	a) Prodigiosus.
Kap. 1,9 μ: pos.	Kap. 1,9 μ: pos.
» 1,6 » : »	» 1,6 » : »
» 1,3 » neg.	» 1,3 » : neg.
» 1,0 » : »	» 1,0 » : »
b) Fluorescens.	b) Fluorescens.
Kap. 1,9 μ: pos.	Kap. 1,9 μ: pos.
» 1,6 » : »	» 1,6 » : »
» 1,3 » : neg.	» 1,3 » : neg.
» 1,0 » : »	» 1,0 » : »
c) Heubazillus.	c) Heubazillus.
Kap. 4,6 μ: pos.	Kap. 4,2 μ: pos.
» 3,0 » : »	» 3,4 » : »
» 2,4 » : »	» 2,4 » : »
» 1,9 » : neg.	» 1,9 » : neg.
» 1,6 » : »	» 1,6 » : »
» 1,0 » : »	» 1,3 » : »
d) Ingwer-Kokken.	d) Ingwer-Kokken.
Kap. 2,7 μ: pos.	Kap. 2,4 μ: pos.
» 1,9 » : »	» 1,9 » : »
» 1,6 » : »	» 1,6 » : »
» 1,3 » : neg.	» 1,3 » : neg.
» 1,0 » : »	» 1,0 » : »
e) Hefe 740.	e) Hefe 740.
Kap. 9,3 μ: pos.	Kap. 8,3 μ: pos.
» 6,1 » : »	» 6,7 » : »
» 5,0 » : »	» 5,0 » : »
» 4,2 » : neg.	» 4,2 » : neg.
» 3,4 » : »	» 3,4 » : »
f) Hefe-Saaz.	f) Hefe-Saaz.
Kap. 6,7 μ: pos.	Kap. 6,7 μ: pos.
» 5,0 » : »	» 5,0 » : »
» 4,2 » : »	» 4,2 » : »
» 3,4 » : neg.	» 3,4 » neg.
» 2,4 » : »	» 2,4 » : »

b) Drucke von 50—100 Atm.

Da es mit dem Druck der Wasserleitung nicht möglich war, Bakterien durch feinste Kapillaren hindurchzupressen, könnte man sich fragen, ob nicht durch die Anwendung bedeutend höherer Drucke diese Erscheinung tatsächlich herbeigeführt werden kann. Wenn auch die Beantwortung dieser Frage für die Praxis der Filtration von geringer Bedeutung ist, so ist es doch immerhin von grofsem Interesse, auf experimentellem Wege diese Aufgabe zu lösen.

Vor allem aber schien mir die Anstellung dahin zielender Versuche deshalb von grofsem Werte, da durch die auf diesem Wege erhaltenen Resultate meine Untersuchungen über das Verhalten der Bakterien gegen feinste Kapillaren an Vollständigkeit bedeutend gewannen und das von mir entworfene Bild über diese interessanten Vorgänge ein noch viel deutlicheres wurde.

Bei der Wahl des anzuwendenden Druckes leitete mich besonders die Überlegung, dafs derselbe bedeutend höher sein mufste als der Wasserleitungsdruck. Es handelte sich aber darum, auf welche Weise der erforderliche Druck am besten zu erzeugen war. Den durch Kompression irgend eines Gases entstehenden Druck zu verwerten, war aus mehreren Gründen so gut wie ausgeschlossen. Erstens standen mir die dazu erforderlichen Apparate nicht zur Verfügung und zweitens ist die Anwendung stark komprimierter Gase wegen der Möglichkeit eines Zerspringens der Glasteile des Apparates mit grofsen Gefahren verbunden. Bei weitem bequemer und vor allem sicherer ist die Benutzung hydraulischer Drucke. Ich war in der angenehmen Lage, eine grofse hydraulische Presse benutzen zu dürfen, welche die Erzeugung eines Höchstdruckes von ca. 300 Atm. gestattete. Diese Presse war mit Glyzerinfüllung versehen, und um mich ihrer bei meinen Versuchen bedienen zu können, bedurfte es nur einer kleinen Änderung. Die von mir getroffene Anordnung der Versuche will ich im folgenden kurz beschreiben.

Zum Einfüllen des Glyzerins war an der Presse eine Schraube angebracht. Diese liefs ich durchbohren und mittels Differential-

gewindes eine aus dickwandigem, auf ca. 500 Atm. Druck geprüftem Messingrohr bestehende Druckleitung anbringen.

Es war unbedingt nötig, das Glyzerin von einer Berührung und Vermischung mit der Bakterienaufschwemmung fernzuhalten. Zu dem Zwecke schaltete ich direkt hinter die Druckleitung (siehe Fig. 5) eine U-förmig gebogene, starke Barometerkapillare ein, die durch Einkitten in eine Messinghülse mit dieser verbunden wurde. Durch eine 10—12 cm lange Quecksilbersäule wurde in dieser ca. 3 mm weiten Kapillare eine Trennung des Glyzerins von der Aufschwemmung bewirkt. Ähnlich wie bei den Versuchen mit Wasserleitungsdruck hätte ich die Barometerkapillare zu einer langen Spitze ausziehen können. Durch Ausübung eines geringen Druckes hätte das Quecksilber bis an das Ende derselben getrieben, ein darüber gesteckter Gummischlauch mit der Aufschwemmung gefüllt und diese durch Zurückbewegen des Druckstempels in das Rohr eingesaugt werden müssen. In die Spitze würde ich dann nach sorgfältigem Trocknen die feine Kapillare in der oben beschriebenen Weise eingekittet haben. Es wäre dies bei dem feststehenden Apparat eine schwer auszuführende Arbeit gewesen. Nach einer gröfseren Reihe von Versuchen hätte sich das Ausziehen einer neuen Spitze oder gar das Einkitten eines neuen U-Rohres an die Druckleitung nötig gemacht. Vor allem aber erlaubte mir diese Anordnung nicht ein Sterilisieren des Apparates vor der Benutzung einer anderen Bakterienart, was zur Erzielung genauer Resultate unbedingt erforderlich war. Diesem Umstande mufste ich in erster Linie Rechnung tragen, und ich glaube es durch die Konstruktion des in Fig. 4 im Längsschnitt dargestellten Apparates in genügender Weise getan zu haben.

Der eiserne Zylinder *A* ist zur Aufnahme der Aufschwemmung bestimmt und kann, wie aus der Fig. 5 skizzierten Gesamtanordnung des Versuches zu ersehen ist, mittels des Gewindes *C* in der eisernen Hülse *b* befestigt werden, in welche das Ende der Barometerkapillare eingekittet ist. Durch eine Vulkanfiberdichtung wird daselbst ein ganz vollkommener Abschlufs erreicht. Der Zylinder *A* kann durch den Deckel *D* ver-

schlossen werden, der auf denselben aufgeschraubt wird und mit einer Vulkanfiberdichtung versehen ist. In der Mitte dieses Deckels ist ein $1^1/_2$ cm langes eisernes Ansatzröhrchen E von ca. 3 mm innerem Durchmesser, in welches eine 8—9 cm lange und 1,5 mm weite Glaskapillare mittels Schellack eingekittet werden kann. In dem Ende derselben wird endlich die für den Versuch bestimmte feine Kapillare befestigt. Die Ausführung der Versuche geschah in der folgenden Weise.

Nachdem die Quecksilbersäule in das **U**-Rohr gebracht worden war, ohne dafs sich zwischen ihr und dem Glyzerin eine Luftblase befand, wurde über die eiserne Hülse *b* (Fig. 5) ein kurzer Gummischlauch gesteckt und das Quecksilber durch Ausübung eines geringen Druckes langsam bis in die Bohrung der Hülse getrieben. Ehe das Quecksilber bis ganz an das Ende

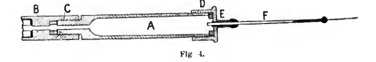


Fig. 4.

gelangt war, wurde der Schlauch mittels Spritzflasche mit destilliertem Wasser gefüllt und letzteres durch Zurückbewegen des Druckstempels in das Glasrohr eingesaugt, und zwar solange, bis zwischen dem Anfang der Quecksilbersäule und der Messinghülse *d* noch genügend Abstand blieb. Nun wurde der eiserne Zylinder vollkommen mit der Aufschwemmung gefüllt, der Deckel, in dessen Ansatzröhrchen die für den Versuch bestimmte Kapillare befestigt war, aufgeschraubt und mittels Zange fest angezogen. Darauf wurde der Zylinder in die Hülse *b* eingeschraubt. Um ein festes Anziehen der Schrauben zu ermöglichen, waren Zylinder *a* und Hülse *b* mit Einkerbungen versehen, so dafs man an ihnen die Schraubenschlüssel fest ansetzen konnte. In der bei den Versuchen mit Wasserleitungsdruck beschriebenen Weise wurde alsdann die Verbindung der feinen Kapillare mit dem zur Aufnahme der Nährlösung bestimmten Röhrchen *c* hergestellt.

Bei den ersten Versuchen wandte ich Drucke bis über 200 Atm. an. Es veranlafsten mich aber die fast immer, trotz gröfster Sorgfalt beim Einkitten des Glasröhrchens *F* (Fig. 4) und der feinen Kapillare, eintretenden Undichtheiten und das häufige Zerplatzen des Röhrchens *F*, von der Benutzung derartig hoher Drucke abzusehen und mich mit solchen von 50 bis 100 Atm. zu begnügen. Nicht nur an den eben genannten Teilen, sondern auch an den Kittstellen des U-Rohres in den Metallhülsen *b* und *d* kamen Tropfen zum Vorschein. Es läfst sich ja auch leicht denken, dafs die Schellackdichtungen, für die allerdings in diesem Falle kein Ersatz zu finden war, derartig hohen Drucken nicht standzuhalten vermögen.

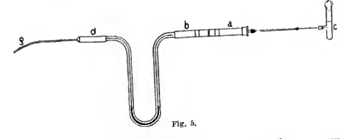


Fig. 5.

Bei den feinsten Kapillaren wandte ich Drucke von ungefähr 100 Atm., bei den weiteren von 50 Atm. an. Die Dauer der Einwirkung des Druckes betrug 10—15 Minuten. Die Nährlösung füllte ich aus oben bereits angegebenen Gründen erst einige Minuten nach Beginn des Versuches in das Gläschen *c* ein. War bei einem Versuche eine Undichtheit eingetreten, so konnte die Einwirkung des betreffenden Druckes nur solange dauern, bis das Quecksilber bis nahe an das Ende des U-Rohres vorgerückt war. Wenn nicht gerade ein Rifs im Schellack entstanden war, dauerte es immerhin eine genügend lange Zeit, ehe dies eintrat. Aus dem Grunde mufste zu Anfang eines jeden Versuches die Quecksilbersäule möglichst weit nach der Druckleitung hin zurückbewegt werden.

Am Ende des Versuches wurde die Kurbel der Presse soweit zurückgedreht, bis das Manometer auf 0 stand, die Kapil-

lare wie bei den Versuchen mit Wasserleitungsdruck abgebrochen, zugeschmolzen, und das Röhrchen *c* in den Brutschrank gestellt.

Das Auseinandernehmen des Apparates hatte deshalb mit grofser Vorsicht zu geschehen, weil immer noch ein beträchtlicher Überdruck vorhanden war. Die Kurbel der Presse mufste noch, ehe der Zylinder *a* abgeschraubt werden konnte, ein bestimmtes Stück zurückgedreht werden, um einen vollkommenen Ausgleich des Druckes herbeizuführen. Geschah dies zu reichlich, so wurde das Quecksilber beim Abschrauben des Zylinders *a* in die Druckleitung hineingesaugt, im anderen Falle wurde es herausgeschleudert. Der Zylinder *a* mufste deshalb nach einigen Drehungen der Kurbel vorsichtig gelockert und dabei die Bewegung der Quecksilbersäule genau beobachtet werden, um das Eintreten dieser unerwünschten Zufälle durch rasches entsprechendes Drehen der Kurbel zu vermeiden.

Nach Losschrauben des Zylinders *a* wurde der Deckel von demselben entfernt und das Innere mit destilliertem Wasser ausgespült. Von dem Glasröhrchen *F* wurde das vom Schellack erfüllte Ende abgebrochen und nach vorherigem vorsichtigen Trocknen des Röhrchens in einer Flamme die Kapillare für den nächsten Versuch eingekittet. Ein Röhrchen reichte in der Regel für 4—6 Versuche.

Sollten Versuche mit einer anderen Bakterienart angestellt werden, so wurde nach vorherigem Sterilisieren des Zylinders *a* ein neues Röhrchen eingekittet. Die Vulkanfiberdichtung war meist durch eine gröfsere Anzahl von Versuchen schadhaft geworden, und es machte sich das Einlegen einer neuen nötig. Bei Anwendung dieser Vorsichtsmafsregeln war das Fehlschlagen eines Versuches durch Verunreinigung mit der zu den vorhergehenden Versuchen benutzten Bakterienart ausgeschlossen.

Ergebnis.

Die bei der grofsen Anzahl der von mir angestellten Versuche erzielten Ergebnisse will ich in der nachfolgenden Übersicht wiedergeben, und zum Vergleich die Ergebnisse der Untersuchungen über den Einflufs des Wasserleitungsdruckes gegenüberstellen.

a) Prodigiosus.

1. 50—100 Atm	2. Wasserleitungsdruck.
Kap. 1,6 μ: pos	Kap. 1,6 μ: pos.
» 1,3 »: »	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: »	» 1,0 »: »
» 0,6 »: »	
» 0,5 »: neg.	
» 0,3 »: »	

b) Fluorescens.

1. 50—100 Atm.	2. Wasserleitungsdruck.
Kap. 1,6 μ: pos.	Kap. 1,6 μ: pos.
» 1,3 »: »	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: »	» 1,0 »: »
» 0,6 »: neg.	
» 0,3 »: »	

c) Heubazillus.

1. 50—100 Atm.	2. Wasserleitungsdruck.
Kap. 3,4 μ: pos.	Kap 3,4 μ: pos.
» 2,4 »: »	» 2,4 »: »
» 2,1 »: »	» 2,1 »: neg.
» 1,9 »: neg.	» 1,9 »: »
» 1,6 »: »	» 1,6 »: »

d) Ingwer-Kokken.

1. 50—100 Atm.	2. Wasserleitungsdruck.
Kap. 1,6 μ: pos.	Kap. 1,6 μ: pos.
» 1,3 »: »	» 1,3 »: neg.
» 1,0 »: neg.	» 1,0 »: »
» 0,6 »: »	

e) Hefe 740.

Kap. 5,0 μ: pos.	Kap. 5,0 μ: pos.
» 4,6 »: »	» 4,6 »: neg.
» 4,2 »: neg.	» 4,2 »: »
» 3,4 »: »	» 3,4 »: »

f) Hefe-Saaz.

Kap. 4,6 μ: pos.	Kap. 5,0 μ: pos.
» 4,2 »: »	» 4,2 »: »
» 3,8 »: »	» 3,8 »: neg.
» 3,0 »: neg.	» 3,0 »: »

Durch diese Versuche ist vor allem der Beweis dafür geführt worden, dafs unter der Einwirkung hoher Drucke die Bakterien durch noch engere Kapillaren hindurchgeprefst werden, als es mit dem Wasserleitungsdruck möglich war. Vor allem aber hat sich die interessante Tatsache ergeben, dafs es selbst bei der Anwendung so bedeutender Drucke nicht gelingt, die Bakterien durch die engsten Kapillaren hindurchzupressen. Für die verschiedenen Arten haben sich wiederum ganz bestimmte Grenzen ergeben, unterhalb derer ein Eindringen der Bakterien nicht stattfindet. Vergleicht man diese Grenzen mit den bei der Untersuchung mit Wasserleitungsdruck erhaltenen, so bemerkt man, dafs bei den vorliegenden Versuchsergebnissen ein gröfserer Unterschied in dem Verhalten der einzelnen Bakterienarten zutage tritt als bei jenen. In diesem Falle spielt die Gröfse der Bakterien eine deutliche Rolle, und es handelt sich um ein rein mechanisches Zurückhalten, während bei den vorigen Versuchen physiologische Momente in Betracht kamen. Für drei in bezug auf ihre Gröfse so verschiedene Arten, wie Bacillus prodigiosus, Bacillus fluorescens und die Ingwer-Kokken, konnte ich bei den vorigen Untersuchungen genau dieselbe Grenze feststellen, während hier ein deutlicher Unterschied zu bemerken ist. Die von mir für diese Arten festgestellten Grenzen, unterhalb derer ein Eindringen auf keinen Fall stattfindet, sind folgende:

0,6 μ für Bacillus prodigiosus,
1,0 » für Bacillus fluorescens,
1,3 » für die Ingwer-Kokken.

Man könnte die Frage aufwerfen, ob die Lebenstätigkeit der Bakterien durch die Einwirkung hoher Drucke eine Schädigung erleidet. Von verschiedenen Forschern sind bereits dahin gehende Versuche ausgeführt worden, und es hat sich die Tatsache herausgestellt, dafs dies keineswegs der Fall ist. Es benutzten Krause[2]) Drucke bis zu 500 Atm., Chlopin und Tamman[1]) sogar bis 2900 Atm., ohne eine Schädigung der Bakterien feststellen zu können.

Das Verhalten der Bakterien gegen künstliche Membranen.

Der Gedanke, dafs fein verteilte chemische Niederschläge vermöge ihrer Dichtheit in ausgedehntem Mafse die Fähigkeit besitzen, in einer Flüssigkeit enthaltene Bakterien an ihrer Oberfläche zurückzuhalten, hat schon vielen Forschern die Veranlassung zu eingehenden Untersuchungen gegeben. So suchte man durch fein verteiltes Aluminiumhydroxyd die oberflächliche Schlammschicht der Sandfilter zu ersetzen, indem man dem Rohwasser Aluminiumsulfat zufügte. Bei den Hausfiltern hat man durch Zusatz fein verteilter Substanzen zum Rohwasser das gleiche zu erreichen versucht. Diese Substanzen setzten sich allmählich auf der Oberfläche des Filters ab und bildeten eine feinporige Schicht, was allerdings die Dauer der Wirksamkeit des Filters wesentlich verkürzte.

Der Versuch, durch Erzeugung von chemischen Niederschlägen innerhalb der Zellwandungen die Leistungsfähigkeit der Kleinfilter zu erhöhen, ist bis jetzt noch von keiner Seite ausgeführt worden. Und doch ist es von grofsem Interesse, den Einflufs dieser Niederschläge auf den Durchtritt der Bakterien kennen zu lernen.

Es hätte mich zu weit geführt, das Verhalten der Bakterien gegen chemische Niederschläge, wie z. B. das bei den Sandfiltern benutzte Aluminiumhydroxyd, festzustellen. Ich hatte vielmehr die Absicht, die Bakteriendurchlässigkeit von chemischen Niederschlägen zu untersuchen, die sich innerhalb der Zellwandungen befinden und sich durch grofse Feinheit der Schicht auszeichnen. Sie sind in Gestalt der sog. künstlichen Membranen seit langem bekannt und werden wegen der Erscheinungen des osmotischen Druckes für physikalisch-chemische Untersuchungen viel verwendet. Bekanntlich besitzen diese sog. halbdurchlässigen Membranen die interessante Eigenschaft, dem Lösungsmittel, nicht aber der gelösten Substanz den Durchtritt zu gestatten. Von der gröfseren Zahl dieser Membranen schien mir wegen ihrer meist sicher gelingenden Herstellung die Ferrocyankupfermembran für meine Untersuchungen am geeignetsten.

Zu den Versuchen benutzte ich Haldenwangersche Tonzellen von der oben beschriebenen Form. Die Herstellung der Ferrocyankupfermembran geschah zuerst nach der Vorschrift von Pfeffer[18]). Da ich nach diesen Angaben keine guten Resultate erzielte, bediente ich mich der von Lüpke[13]) gegebenen Vorschrift, nach welcher ich gute Erfolge zu verzeichnen hatte. Die Zellen wurden vollkommen mit Wasser durchtränkt, darauf mit einer ca. 3proz. Ferrocyankaliumlösung gefüllt, mit einem höchstens 1 cm tief eingesetzten Gummistopfen verschlossen, der mit einer beiderseits offenen Glasröhre versehen war, und bis an den Rand in ca. 3proz. Kupfersulfatlösung getaucht. In dieser blieben die Zellen ca. 8 Tage stehen und wurden dann gründlich gewässert.

Ehe ich nun das Verhalten der Bakterien gegen diese so hergestellten künstlichen Membranen untersuchte, mufste ich sie vor allem auf ihre Dichtheit prüfen, d. h. feststellen, ob dieselben der gelösten Substanz auch wirklich den Durchtritt verwehrten. Zu dem Zwecke füllte ich die Zellen mit 50proz. Rohrzuckerlösung, verschlofs sie durch einen mit Steigrohr versehenen Gummistopfen und stellte sie soweit in destilliertes Wasser, dafs der Hals der Zelle zum gröfsten Teil frei blieb. Nach 24 Stunden wurde das aufsen befindliche Wasser auf 100 ccm aufgefüllt, filtriert und durch Polarisieren der Zuckergehalt festgestellt. Nur bei einigen Zellen betrug derselbe 0,03—0,05 %, während bei den anderen eine Drehung nicht stattfand, die Zellen sich also als absolut dicht erwiesen.

Zu bemerken wäre noch die interessante Wahrnehmung, dafs die Membranen selbst nach mehreren Monaten durch wiederholtes Auskochen und Sterilisieren im Autoklaven und durch die Stoffwechselprodukte der Bakterien nicht den geringsten Schaden erlitten.

Bei den Versuchen bediente ich mich wieder der in Fig. 1 dargestellten Anordnung. Als Nährlösung wandte ich wie früher 1proz. Fleischextraktbouillon an. Da bei den früheren Versuchen Bacillus prodigiosus die Tonzellen in der kürzesten Zeit durchwanderte, schien er mir zu diesen Versuchen besonders

geeignet, weil mit ihm bei weitem schnellere und sicherere Resultate zu erzielen waren als mit den anderen Arten. Die Apparate wurden nach dem Einfüllen der Bakterienaufschwemmung in den Brutschrank gestellt und täglich kontrolliert.

Ergebnis der Versuche.

Es ergab sich die interessante Tatsache, dafs durch die Zellen, welche sich als absolut dicht erwiesen hatten, Bacillus prodigiosus selbst nach mehreren Wochen nicht hindurchwuchs. Durch die anderen jedoch, bei denen ich eine ganz geringe Undichtheit nachgewiesen hatte, wuchs er in ca. 8—14 Tagen hindurch. Doch trat dies nicht immer ein, sondern ich habe einige Fälle beobachtet, wo er derartige Zellen selbst nach mehreren Wochen nicht durchdrang. Die Erklärung hierfür ist nur darin zu suchen, dafs die undichte Stelle nicht von der Nährlösung berührt wurde, sondern sich am Hals der betreffenden Zellen befand, wo allerdings bei der Prüfung auf Dichtheit eine Diffusion des Zuckers möglich war.

Das Durchwachsen von Bacillus prodigiosus durch eine Membranzelle mit geringer Undichtheit (0,03 proz. Zucker) wurde dadurch wesentlich beschleunigt, dafs in das Innere der Zelle Peptonwasser, aufsen aber Bouillon gebracht wurde. Während Bacillus prodigiosus bei der gewöhnlichen Anordnung zum Durchdringen der betreffenden Membranzelle 12 Tage brauchte, fand im letzteren Falle bereits nach 5 Tagen ein Durchwachsen statt. Dadurch, dafs aufsen eine ungleich bessere Nährlösung vorhanden war, wurde auf den Bazillus ein Reiz ausgeübt, der ein schnelleres Durchwachsen zur Folge hatte.

Um einen Vergleich mit einer anderen Bakterienart anzustellen, setzte ich einige Membranzellen, die bereits zu Versuchen mit Prodigiosus gedient hatten, nach vorheriger Sterilisation mit Bacillus fluorescens an. Es zeigte sich, dafs dieser selbst nach ca. 6 Wochen nicht durch die Membranen hindurchtrat, selbst durch die nicht, die Bacillus prodigiosus in 10 Tagen durchdrungen hatte. Trotz seiner schnellen Eigenbewegung und ver-

hältnismäfsig geringen Gröfse ist Bacillus fluorescens nicht imstande, die Membranen zu durchdringen. Ich glaube aus dieser Tatsache den Schlufs ziehen zu dürfen, dafs die Undichtheiten der Ferrocyankupfermembran von derartig geringer Ausdehnung waren, dafs nur ein Bazillus von der Gröfse des Prodigiosus durch sie hindurch gelangen konnte.

Um genauen Aufschlufs über die Stärke und Gestalt der Membranen zu erlangen, bediente ich mich wieder der Dünnschliffe, die in der oben beschriebenen Weise hergestellt wurden. Zertrümmerte man eine Zelle, so war die Membran ganz genau in der Mitte der Zellwandung als feiner gleichmäfsiger, dunkelbrauner Strich zu erkennen. Bei schwacher, ca. 50facher Vergröfserung des Dünnschliffes zeigte es sich aber (vergl. Tafel IV, Fig. 4), dafs sie von sehr verschiedener Ausdehnung war. Teilweise waren die Poren der Zellen vom Niederschlag ausgefüllt, an anderen Stellen war die Stärke der Membran sehr gering. Wie ich mit der Ölimmersion feststellte, schwankte die Stärke der Membran zwischen ungefähr 8—70 μ. Bei dieser ca. 800fachen Vergröfserung waren auch in der Membran Poren von grofser Feinheit zu bemerken, die aber nur eine geringe Länge besafsen.

Es wäre von grofsem Interesse gewesen, in einem derartigen Dünnschliffe die Bakterien zu färben, um deren eventuelle Ansammlung an der inneren Seite der Membran vor Augen zu führen. Leider war mir dies wegen der äufserst geringen Haltbarkeit dieser Schliffe und aus den oben angeführten Gründen nicht möglich, da sich Bacillus prodigiosus und Bacillus fluorescens nicht nach Gram färben lassen. Und mit einer gewöhnlichen Färbemethode ist es, wie ich feststellen konnte, ausgeschlossen, gute Bilder zu erhalten, da das Ausziehen des Farbstoffes mittels Alkohol aus den Partien, die ungefärbt erscheinen sollen, nur unvollkommen geschieht.

Das Ergebnis der vorliegenden Untersuchung über das Verhalten der Bakterien gegen künstliche Membranen läfst sich dahin zusammenfassen, dafs eine absolut dichte Ferrocyankupfermembran den Bakterien auf keinen Fall den

Durchtritt gestattet, dafs aber schon eine minimale Undichtheit derselben genügt, um ein Hindurchtreten der Bakterien zu ermöglichen.

Man könnte die Frage aufwerfen, ob dieses Ergebnis irgend welche praktische Bedeutung für die Wasserfiltration hat. Versucht man durch eine derartige, absolut dichte Membranzelle Wasser zu filtrieren, so gehört ein beträchtlicher Druck dazu, um dies zu erreichen. Aufserdem steigt bei Erhöhung des Druckes die Möglichkeit einer Zerstörung der Membran. Eine praktische Anwendung der Membranzellen für Zwecke der Wasserfiltration ist daher ausgeschlossen. In bezug auf Keimdichtheit würden diese Zellen nahezu ideal zu nennen sein, in Hinsicht auf die Menge des gelieferten Filtrates würde ihre Verwendung aber nicht in Frage kommen.

Zusammenfassung.

Die Hauptergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich in folgendem zusammenfassen:

1. Die Zeit, in welcher ein Filter von einer bestimmten Bakterienart durchdrungen wird, ist in hohem Mafse abhängig von der Bewegungsfähigkeit und Gröfse der betreffenden Bakterienart.
2. Aufser den grofsen Poren besitzen die Kleinfilter auch solche von grofser Feinheit, deren Vorhandensein durch die Anordnung der Bakterien in gefärbten Präparaten von Zellschliffen bewiesen wird.
3. Für das Eindringen von Bakterien in feinste mit Nährlösung gefüllte Kapillaren bestehen bestimmte Grenzen; der Unterschied derselben ist im Vergleich zur Verschiedenheit der Gröfse der angewandten Bakterienarten nur sehr gering.
4. Ein Hineindrängen der Bakterien in mit Nährlösung gefüllte Kapillaren, deren Durchmesser unterhalb der bestimmten Grenzen von 1,6—1,9 μ liegen, findet nicht statt.

5. Für das Einsaugen von Bakterien in leere Kapillaren bestehen gleichfalls bestimmte Grenzen von 1,6—2,3 μ, unterhalb derer ein Eindringen der Bakterien nicht mehr stattfindet.

6. Die Zeiten, in denen mit Nährlösung gefüllte Kapillaren von Bakterien durchdrungen werden, sind in hohem Maſse abhängig von den Durchmessern der Kapillaren. Sie werden ferner wesentlich bestimmt durch die Gröſse und Bewegungsfähigkeit der betreffenden Bakterienarten.

7. Unter Einwirkung eines Druckes von 3 Atm. gelingt es nicht, Bakterien durch Kapillaren hindurchzupressen, durch die sie freiwillig nicht hindurchgegangen sind.

8. Durch Anwendung hoher Drucke von 50—100 Atm. werden die Bakterien durch noch engere Kapillaren hindurchgepreſst, als durch Wasserleitungsdruck. Auch hier bestehen für die verschiedenen Arten bestimmte Grenzen von 0,6—2,1 μ, unterhalb derer ein Hindurchgehen der Bakterien auf keinen Fall stattfindet. Diese Grenzen werden in der Hauptsache bedingt durch die Gröſse der betreffenden Bakterienarten. Durch Kapillaren unter 0,4 μ Durchmesser sind Bakterien unter keinen Umständen hindurchzutreiben.

9. Absolut dichte künstliche (Ferrocyankupfer-) Membranen gestatten den Bakterien auf keinen Fall den Durchtritt.

10. Das physikalische Verhalten derartiger absolut keimdichter Membranen schlieſst ihre praktische Verwertbarkeit für die Filtration aus, wie überhaupt Filter, deren Poren kleiner sind als die kleinsten Keime, zur Filtration nicht verwendet werden können, da durch sie Wasser nur unter Anwendung sehr hoher Drucke hindurchgeht.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Februar 1904 bis Januar 1905 im Hygienischen Institut der Kgl. S. Technischen Hochschule zu Dresden ausgeführt.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. med. Renk für die gütige Überlassung des Themas, sowie meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. med. K. Wolf, meinen verbindlichsten Dank für die mir zu jeder Zeit in liebenswürdigster Weise gewährte Unterstützung bei meinen Arbeiten auszusprechen.

Literatur.

1. Chlopin u. Tamman, »Über den Einfluſs hoher Drucke auf Mikroorganismen«. Zeitschrift f. Hygiene, 1903, Bd. 45.
2. v. Esmarch, E., »Über kleinste Bakterien und das Durchwachsen von Filtern«. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1902, Bd. 32.
3. Fränkel u. Piefke, »Versuche über die Leistungen der Sandfiltration«. Zeitschrift f. Hygiene, 1890, Bd. 8.
4. Gruber, M., »Gesichtspunkte für die Prüfung und Beurteilung von Wasserfiltern«. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1893, Bd. 14.
5. Hesse, G., »Beiträge zur Herstellung von Nährböden und Bakterienzüchtung«. Zeitschrift f. Hygiene, 1904, Bd. 26.
6. Hesse, W., »Über Wasserfiltration«. Deutsche Medizinische Wochenschrift, 1885.
7. Hesse, W., »Über Wasserfiltration«. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 1, S. 178.
8. Kirchner, M., Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Berkefeld-Filter aus gebr. Infusorienerde«. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 14 u. 15.
9. Krause, Zentralblatt f. Bakteriologie, 0. Bd. 31.
10. Kübler, »Untersuchung über die Brauchbarkeit der Filtres sans pression, Système Chamberland-Pasteur«. Zeitschrift f. Hygiene, 1890. Bd. 8.
11. Landolt, H., Physikalisch-Chemische Tabellen.
12. Lübbert, Pharmazeutische Zentralhalle, 1891, Nr. 39 u. 40.
13. Lüpke, R., Grundzüge der Elektrochemie. Berlin 1896.
14. Miller, W. D., Mikroorganismen der Mundhöhle.
15. Möller, Tageblatt d. 59. Versammlung deutsch. Naturforscher u. Ärzte. 1886.
16. Pfeffer, W., »Lokomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize«. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut Tübingen, Bd. 1.
17. Pfeffer, W., Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvozineen«. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut Tübingen. Bd. 2.
18. Pfeffer, W., Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877.
19. Plagge, Tageblatt der 59. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte. 1886, S. 323.
20. Pukall, W., »Über Tonfilter, ihre Eigenschaften und ihre Verwendbarkeit in chemischen und bakteriologischen Laboratorien«. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 1893.
21. Schöfer, H., »Über das Verhalten von pathogenen Keimen in Kleinfiltern«, Zentralblatt f. Bakteriologie, 1893, Bd. 14.

Beitrag zur Wirkung von Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft.

(Infektion der vorderen Augenkammer mit abgewogenen kleinsten Tb.-Mengen.)

Von

Dr. Richard Link,

Privatdozent für innere Medizin, Assistenzarzt an der medizinischen Klinik.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.)

Die sowohl in theoretischer wie in praktischer Beziehung so aufserordentlich wichtige Frage nach der Identität oder Nichtidentität der Erreger der menschlichen und der Rindertuberkulose, dieser zwei klinisch so verschiedenen Krankheitsbilder, ist auch heutzutage noch immer nicht in einer allgemein anerkannten Weise gelöst. Noch immer steht der Ansicht: beide Krankheitserreger sind identisch, und das verschiedene Krankheitsbild beruht nur auf der Verschiedenheit der beiden Organismen — die andere gegenüber: beide Krankheitserreger sind, wenn auch nicht kulturell und morphologisch, so doch biologisch verschieden, und erzeugen deshalb verschiedene Krankheitsbilder.

Um die Wirkungsweise bzw. die Verschiedenheit derselben bei genau abgewogenen kleinsten Mengen von Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft festzustellen, schlugen wir folgende Versuchsanordnung ein: In eine vordere Augenkammer[1]) von 18 tun-

1) Die Operation an den Augen führte Herr Privatdozent Dr. Stock, I. Assistent an der Universitäts-Augenklinik aus. Für diese Unterstützung sage ich ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank, ebenso den chemischen Assistenten am Hygienischen Institut, Herrn Krause und Theobold, für die Wägungen der zu den Operationen verwendeten kleinsten Mengen von Tuberkelbazillen-Kulturen.

lichst gleichartigen Kaninchen wurden chemisch genau abgewogene Stückchen von Tuberkelbazillenkulturen eingebracht, und nun der Verlauf der sich einstellenden tuberkulösen Entzündung sowohl im Auge selbst wie auch hinsichtlich der später eintretenden Allgemeininfektion beobachtet.

Zwei Reihen von Versuchen mit je neun Kaninchen wurden angestellt; es kamen Mengen von 0,0001 bis 0,0002 g Tuberkelbazillenkultur zur Verwendung, wobei es besondere Schwierigkeiten machte, diese kleinsten Portionen in einem Stück zu erhalten. — Was die verwendeten Kulturen von Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft betrifft, so stammte das als menschliche Tuberkelbazillen bezeichnete Infektionsmaterial von einem schwer kranken Phthysiker, der sich im hiesigen klinischen Hospital in Behandlung befand, und aus dessen Sputum nach einmaliger Passage durchs Meerschweinchen die Reinkulturen gewonnen waren. Die typische Kultur der Perlsuchtbazillen verdanken wir Herrn Professor v. Behring in Marburg, welcher sie uns durch seinen Assistenten Herrn Dr. Römer überliefs.

Als Kontrolltiere wurden je einem Meerschweinchen am 5. November 1904 je 1 ccm einer Emulsion der beiden Bazillenarten in die Bauchhöhle injiziert. Das mit den menschlichen Tuberkelbazillen infizierte Tier starb schon nach 23 Tagen und zeigte das gewöhnliche Bild einer generalisierten Tuberkulose mit linksseitigem pleuritischem Ergufs. Das mit den Perlsuchtbazillen behandelte Meerschweinchen dagegen wurde am 9. März 1905 bei noch verhältnismäfsig gutem Allgemeinbefinden getötet. Es zeigte eine nicht sehr hochgradige generalisierte Tuberkulose. Da der Verlauf der Infektion von Meerschweinchen meist ein schwererer ist bei den Perlsuchtbazillen, so wird das hier beobachtete umgekehrte Verhalten vielleicht auf Zufälligkeiten beruhen; denkbar wäre auch, dafs die Meerschweinchenpassage der menschlichen Tuberkelbazillen als virulenzvermehrend hier in Betracht käme.

Das Nähere über Versuchsanordnung, Verlauf und den Obduktionsbefund geht aus den beigefügten zwei Tabellen hervor.

A. Versuche mit Bazillen der menschlichen Tuberkulose.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	I	II	III
Datum der Infektion	15. I. 04.	15. I. 04.	15. I. 04
Anfangsgewicht . . .	1950 g	2200 g	2240 mg
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge . .	0,2 mg	0,15 mg	0,1 mg
Verlauf der Infektion an den Augen . . .	Unter starker Injektion u. Schwellung der Iris sind nach 9 Tagen kleinste miliare Knötchen in derselben aufgetreten, die allmählich gröfser werden. Die Kornea wird im Februar trüb, nekrotisch, perforiert. Der Bulbus verkäst. 20. V. bei verhältnismäfsig gutem Allgemeinbefinden getötet.	Bis Ende Januar entwickelt sich ein $^1/_3$ der Vorderkammer einnehmendes Hypopyon mit schwerer Iritis mit massenhaften Knötchen. Die Kornea wird trüb, dann nach vorübergehender Besserung nekrotisch, perforiert. Der Bulbus verkäst. 20. V. bei verhältnismäfsig gutem Allgemeinbefinden getötet.	Unter starker Injektion u. Schwellung der Iris sind nach 9 Tagen kleinste miliare Knötchen in derselben aufgetreten, die dann an Zahl zunehmen und sich vergröfsern. Vorderkammer voll Fibrin. Die Iritis wird stärker, die Kornea trüb, perforiert. Der Bulbus verkäst. 16. III. gestorben.
Befund	Auge verkäst. Lungen: Zahlreiche graue Knötchen mit gelben Einsprengungen. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Graue Knötchen, am Rand konfluiert; hier gelb gefärbt. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Schwere Tuberkulose. Milz: Frei. Nieren: Einzelne Tuberkel. Leber: Frei.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	IV	V	VI
Datum der Infektion	15. I. 04	15. I. 04	15. I. 04
Anfangsgewicht . . .	2390 g	2780 g	2520 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge .	0,1 mg	0,1 mg	0,11 mg
Verlauf der Infektion an den Augen . . .	Unter starker Injektion u. Schwellung der Iris und etwas Exsudat in der Vorderkammer treten zunächst einzelne, dann Anfang Februar mehr Knötchen in der Iris auf. Diese werden gröfser, die Kornea dann trüb, nekrotisch, perforiert Anfang März durchs Oberlid. Der Bulbus verkäst.	Unter starker Injektion u. Schwellung der Iris und dann Entwicklung eines grofsen Hypopyons treten massenhafte Knötchen auf. Die Kornea wird schnell nekrotisch perforiert. Vom Bulbus ist schliefslich nur mehr eine granulierende Fläche übrig.	Während anfangs nur ein fibrinöses Exsudat entsteht, treten erst Anfang Februar zahlreichere Knötchen in der Iris auf. Die Hornhaut wird trüb, vascularisiert, erst Ende März perforiert. Der Bulbus verkäst.
	18. III. gestorben. Grofser tuberkulöser Abszefs auf der Nase.	20. V. bei schlechtem Allgemeinbefinden getötet.	20. V. bei etwas besserem Allgemeinbefinden als V getötet.
Befund	Auge verkäst. Lungen: Nicht sehr starke Tuberkulose. Betroffen besonders die oberen Teile. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: rechts in der Mitte einige Knötchen, links grofser Abszefs. Milz: Frei. Nieren: rechts ein Knötchen, links frei. Leber: Frei.	Auge verkäst. Lungen: $r > l$ zahlreiche graue und gelbe Knötchen zum Teil konfluiert. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »

Lfd. Nr. d. Kaninchen	VII	VIII	IX
Datum der Infektion	5. XI. 04	5. XI. 04	5. XI. 04
Anfangsgewicht . . .	2820 g	2820 g	3070 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge .	0,1 mg	0,1 mg	0,15 mg
Verlauf der Infektion an den Augen . . .	In den ersten 8 Tagen entwickelt sich starke Injektion und Schwellung der Iris und Trübung der Hornhaut. Dann tritt vorübergehend Hypopyon auf. Die Hornhaut wird stärker trüb, perforiert; der Bulbus verkäst.	In den ersten 8 Tagen entwickelt sich eine Konjunktivitis, Keratitis, Iritis. Dann treten knötchenförmige Bildungen an der Hornhaut auf. Diese wird trüb, wölbt sich vor, wird perforiert; der Bulbus verkäst.	Es entsteht eine Iritis mit 3 allmählich wachsenden Knötchen. Die Hornhaut trübt sich schnell, wird perforiert und der Bulbus verkäst.
	9. III. 05 bei gutem Allgemeinbefinden (Gewicht 2910 g) getötet.	9. III. 05 bei ziemlich gutem Allgemeinbefinden (Gewicht 3050 g) getötet.	9. III. 05 bei schlechtem Allgemeinbefinden (Gewicht 2480 g) getötet.
Befund	Auge verkäst. Lungen: Beiderseits wenig miliare graue, durchscheinende Knötchen ohne Verkäsung. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Beiderseits Knötchen, gröfser als bei VII, zum Teil verkäst. Milz: miliare Knötchen. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Beiderseits serofibrinöse Pleuritis. Lungen fast völlig tuberkulös verändert und verkäst. Sehr wenig Gewebe mehr übrig. Milz: miliare Knötchen. Nieren: frei. Leber: »

B. Versuche mit Perlsuchtbazillen.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	X	XI	XII
Datum der Infektion	20 II. 04	20. II 04	20. II. 04
Anfangsgewicht . . .	1805 g	1890 g	2075 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge.	0,2 mg	0,1 mg	0,2 mg
Verlauf der Infektion an den Augen . . .	Es entstebt nur Vascularisation und Schwellung der Iris ohne Knötchenbildung. Diese nimmt zu, es tritt Exsudat hinzu und Keratitis parenchymatosa. Ende März ist die Hornhaut perforiert, der Bulbus verkäst.	Es entsteht zunächst nur Vascularisation und Schwellung der Iris, die allmählich zunimmt. Erst Ende März ist ein weifser Herd in der Iris zu sehen. Es entwickelt sich eine Keratitis parenchymatosa, die Hornhaut wird perforiert, der Bulbus verkäst.	Es entsteht zunächst nur Schwellung und Vascularisation der Iris ohne Knötchenbildung, die allmählich zunimmt. Erst Ende März ist ein kleiner graugelber Herd in der Iris zu sehen. Die Kornea wird erst später diffus parenchymatös getrübt und perforiert. Der Bulbus verkäst.
	20. V. 04 bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden getötet.	20. V. 04 bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden getötet.	20. V. 04 bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden getötet. Abszefs am rechten Bein.
Befund	Auge verkäst. Lungen: Grofse teils graue, teils gelbe Knoten. Milz: Grofse gelbliche Knoten. Nieren: 2—3 gelbliche Knoten. Leber: frei.	Auge verkäst. Lungen: Grofse, graue Knoten mit käsigen Einsprengungen. Milz: Frei. Nieren: Frei. Leber: »	Auge verkäst. Lungen: Grofse graue Knoten mit käsigen Einsprengungen. Milz: Kleine Knötchen. Nieren: Kleine Knötchen. Leber: Frei.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	XIII	XIV	XV
Datum der Infektion	5. XI. 04	5. XI. 04	5. XI. 04
Anfangsgewicht . . .	3750 g	3200 g	2700 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge . .	0,15 g	0,1 mg	0,1 mg
Verlauf d. Infektion an den Augen . . .	Es entsteht zunächst eine Iritis ohne Knötchenbildung, sowie parenchymatöse Keratitis. Ende November sind undeutlich einige Knötchen in der Iris zu erkennen. Die Hornhaut stark trüb, vorgewölbt, Mitte Dezember perforiert. Der Bulbus verkäst.	Es entsteht zunächst etwas Iritis und Keratitis. Ende November sind zahlreiche Knötchen zu sehen. Dann trübt sich die Hornhaut schnell, wird sehr stark vascularisiert. Dahinter käsige Massen.	Es entsteht eine Iritis mit 2 Knötchen, die langsam wachsen. Ende November ist die Hornhaut in toto trüb, vascularisiert, wird Anfang Dezember perforiert. Der Bulbus verkäst.
	15. I. 05 gestorben (Gewicht 13. I. 2520 g.)	1. II. 05 gestorben. (Gewicht 30. I. 2670 g)	4. II. 05 gestorben (Gewicht 30. I. 2270 g.)
Befund	Auge verkäst. Lungen: Bis kirschkerngroſse Knoten mit sehr starker Verkäsung, teilweise käsige Pneumonie. Milz: Zahlreiche kleine Knötchen. Nieren: Zahlreiche bis gerstenkorngroſse Knötchen $l > r$. Leber: Frei.	Auge verkäst. Lungen: Bis erbsengroſse, stark verkäste Knoten. Milz: Frei. Nieren: Bis gerstenkerngroſse Knoten. Leber: Frei.	Auge verkäst. Lungen: Bis erbsengroſse stark verkäste Knoten. Milz: Ganz kleine Knötchen. Nieren: Bis erbsengroſse, zentral verkäste Knoten. Leber: Frei.

Lfd. Nr. d. Kaninchen	XVI	XVII	XVIII
Datum der Infektion	5. XI. 04	5 XI. 04	5. XI. 04
Anfangsgewicht . . .	2600 g	2370 g	2170 g
Gew. d. eingebrachten Bakterienmenge .	0,2 mg	0,2 mg	0,2 mg
Verlauf d. Infektion an den Augen . . .	Es entsteht eine starke Iritis und Keratitis mit starker Trübung und Vascularisation der Hornhaut. Bei einigen Knötchen läfst sich nicht genau erkennen, ob sie Bazillenhaufen oder Tuberkel sind. Die Hornhaut wird sehr schnell perforiert, der Bulbus verkäst.	Es entsteht eine starke Iritis, ohne dafs Knötchen sichtbar werden, und eine heftige Keratitis. Die Hornhaut wird stark parenchymatös getrübt und vascularisiert und Mitte Dezember perforiert. Der Bulbus verkäst.	Bis Mitte November hat sich eine schwere Konjunktivitis und Keratitis parenchymatosa entwickelt, so dafs von der Iris, die ebenfalls starke Entzündungserscheinungen zeigte, nur mehr der obere Teil zu sehen ist. Keine Knötchenbildung. An Stelle der Hornhaut ist Ende November nur mehr eine völlig vascularisierte, bindegewebige Masse zu sehen, die dann perforiert wird.
	25. XII. 04 gestorben. (Gewicht 16. XII. 2600 g, nach vorheriger Abnahme bis 2320 g.)	28. I. 05 gestorben. (Gewicht 13. I. 2320 g.	12. XII. 04 gestorben. (Gewicht 2. XII. 1900 g.)
Befund	Auge verkäst Doppelseitiger, grofser, pleuritischer Ergufs. Pericarditis exsudativa und Ascites. Lungen: Kleine Knötchen. Milz: Frei. Nieren: Kleinste Knötchen. Leber: Frei.	Auge verkäst. Doppelseitiger pleuritischer Ergufs. Lungen: Schwerste konfluierende Tuberkulose mit sehr starker Verkäsung. Kaum mehr normales Gewebe vorhanden. Milz: Kleinere Knötchen. Nieren: Beiderseits fast kleine erbsengrofse Knoten. Leber: Frei.	Auge verkäst. Lungen: Bis gerstenkerngrofse Knoten. Milz: Kleinere Knoten. Nieren: Nur links ein Knötchen, rechts frei. Leber: Frei.

Bei sämtlichen Obduktionen der zur Untersuchung gelangenden Tiere wurde durch Ausstrichpräparate das Vorhandensein von Tuberkelbazillen festgestellt. Dabei erwiesen sich die Perlzuchtbazillen — entsprechend den von Kossel, Weber und Heufs[1]) mitgeteilten eigenen und den Befunden zahlreicher anderer Autoren. — ebenso wie bei der Ausgangskultur stets als ziemlich kurze Stäbchen, die nie eine Spur von Körnelung zeigten, während die menschlichen Tuberkelbazillen mehrfach eine solche erkennen liefsen. — Mikroskopische Untersuchungen verschiedener von Tuberkulose befallener innerer Organe ergaben nichts Besonderes.

Bezüglich des Verlaufs der Tuberkulose an den Augen scheint mir ein Unterschied insofern zutage getreten zu sein, als bei der Infektion mit menschlichen Tuberkelbazillen die Knötchenbildung in den Vordergrund trat, während bei der mit Perlsuchtbazillen die diffus entzündlichen Erscheinungen — nicht etwa auf Wundinfektion beruhend — überwogen. Bei sieben von den neun Versuchstieren der ersten Reihe, der mit menschlichen Tuberkelbazillen infizierten, ist das Auftreten von meist massenhaften Knötchen vermerkt; bei einem der zwei anderen Tiere erschwerte die sehr früh, in den ersten acht Tagen auftretende Hornhauttrübung die Beurteilung. Bei nur fünf der mit Perlsuchtbazillen infizierten Tiere ist dagegen das Auftreten von Knötchen verzeichnet; bei drei sind es nur eins oder einzelne, bei einem sind es zahlreiche, bei einem sind sie in ihrer Art zweifelhaft. Eine starke Iritis mit erheblicher Schwellung und Vascularisation trat bei allen Versuchstieren dieser Reihe sehr bald auf.

Eine Abhängigkeit des Verlaufs der Krankheitserscheiuungen von der Menge der eingebrachten Bazillen liefs sich weder an den Augen noch auch bei der Gesamtinfektion des Organismus nachweisen: es konnten keine Verschiedenheiten festgestellt werden zwischen den Fällen, welche nur mit 0,0001 und denen, welche mit 0,0002 g Kultur behandelt waren. Allerdings hatte z. B. Tier XVIII in der zweiten Reihe, das nach der überhaupt

1) Tuberkulose Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt, 1. u. 3. Heft, 1904 u. 1905.

kürzesten Krankheitsdauer von 37 Tagen starb, 0,0002 g Kultur erhalten; dem steht aber Tier XVII gegenüber, das, mit der gleichen Menge infiziert, beinahe so lange lebt wie XIV, das nur 0,0001 g erhalten hatte. Es bedeutet ja auch 0,0001 g Trockenkultur für ein Kaninchen eine ganz enorme Bazillenmasse.

Der Allgemeinverlauf gestaltete sich bei den mit Perlsuchtbazillen infizierten Tieren schwerer als bei den mit menschlichen Tuberkelbazillen behandelten. Von ersteren starben sechs nach 37—87 Tagen, darunter die zwei bei Beginn der Versuche schwersten Tiere XIII und XIV; die anderen drei wurden nach 90 Tagen getötet, alle bei sehr schlechtem Allgemeinbefinden. Von den letzteren dagegen starben nur zwei nach 61 und 63 Tagen, von den übrigen sieben wurden vier getötet nach 126, drei nach 124 Tagen. Vier von den sieben waren noch bei ziemlich gutem Allgemeinbefinden.

Bei sämtlichen Tieren trat eine Allgemeininfektion ein. Am stärksten waren stets die Lungen befallen; bei einem Tier (VII) fanden sich nur miliare graue Knötchen; bei allen andern waren die Veränderungen gröfser. Die schwersten Affektionen zeigten auch hier die mit Perlsuchtbazillen behandelten Kaninchen. — Frei blieb bis auf zwei Fälle (IX und XVI) die Pleura; stets frei blieb die Leber. Ascites fand sich nur einmal. Beteiligt waren die Milz und die Nieren — bei der menschlichen Tuberkulose in je zwei, bei der Perlsucht in je sechs bzw. acht Fällen. Unter den letzteren, den Nierenaffektionen der Perlsuchtreihe, sind bis erbsengrofse Knoten vermerkt. — Tier XI, das nach 90 Tagen noch intakte Milz und Nieren aufwies, mufs hier freilich im Vergleich mit den nach 124 bzw. 126 Tagen getöteten Tieren der Reihe mit menschlicher Tuberkulose ausscheiden.

Während somit an den Augen bei der Infektion mit Perlsuchtbazillen ein Überwiegen der diffus entzündlichen Erscheinungen gegenüber der sehr starken Knötchenbildung bei der Infektion mit menschlichen Tuberkelbazillen zu beobachten ist, tritt sowohl in bezug auf den Allgemeinverlauf als auch auf die Beteiligung der einzelnen Organe und der Ausdehnung des Krank-

heitsprozesses in denselben eine gröfsere Virulenz der verwendeten Perlsuchtkultur als der menschlichen Tuberkelbazillen für Kaninchen zutage. Es entspricht dieses Ergebnis bei der hier gewählten Versuchsanordnung durchaus dem von zahlreichen Autoren[1]) erhobenen Befund, wonach bei verschiedenen Übertragungsarten Perlsuchtbazillen für Kaninchen erheblich virulenter sind als menschliche Tuberkelbazillen.

Zum Schlufs ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Hofrat Professor Dr. Schottelius für die Anregung zu dieser Arbeit und seine freundliche Unterstützung bei Ausführung der Versuche meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

1) Kossel, Weber u. Heufs, Vergleichende Untersuchungen über Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft, Tuberkulosearbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte, 1. u. 3. Heft, 1904 u. 1905. Sonstige Literatur hier sowie bei:

A. v. Székely, Die Frage der Identität der menschlichen und Rindertuberkulose. Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 32, Nr. 6, 7 u. 8.

Ziegler, Artikel Tuberkulose in den Enzyklopädischen Jahrbüchern der gesamten Heilkunde. Neue Folge, Bd. 2.

P. Cornet u. A. Meyer, Tuberkulose im 2. Band des Handbuchs der pathogenen Mikroorganismen, herausgegeben von Wassermann u. Kolle.

2 17

Bakterizide Reagenzglasversuche mit Choleravibrionen.

Von

Prof. Dr. **Oskar Bail** und Dr. **Yonetarō Kikuchi.**

Assistenten des Institutes. Ōsaka (Japan).

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.)

Im Anfang dieses Jahres veröffentlichten Pfeiffer und Friedberger eine kurz gehaltene, aber anscheinend erschöpfende Mitteilung über Versuche, die Immunserumwirkung bei Choleravibrionen und Typhusbazillen durch Zugabe eines vorher mit den betreffenden Organismen behandelten Serums zu behindern. Ihre Versuche wurden in der Meerschweinchenbauchhöhle so augestellt, dafs ein vorher mit z. B. Choleravibrionen behandeltes Serum von Ziege, Kaninchen und Tauben, nicht aber von Meerschweinchen, nach Entfernung der Bakterien: 1. die untertödliche Dosis von Choleravibrionen tödlich zu machen, 2. die Wirkung eines gleichzeitig eingespritzten Immunserums, wenn auch nicht im vollen Umfange des Gesetzes der Multipla zu hindern vermochte.

Auf den ersten Blick schien hier eine auffallende Ähnlichkeit mit den von einem von uns studierten Choleraaggressinen vorzuliegen, doch ergibt eine nähere Überlegung tiefgreifende Unterschiede. Die wichtigsten davon sind, abgesehen von den gänzlich verschiedenen quantitativen Verhältnissen, die, dafs Pfeiffer und Friedberger das Meerschweinchenserum unfähig zur Aus-

lösung dieser Erscheinung fanden, während das Choleraaggressin gerade von Meerschweinchen stammt, ferner aber, dafs die mit Vibrionen behandelten Sera eine Vermehrung der Bazillen zuliefsen, während bei Anwendung von Aggressin in der sehr grofsen Mehrzahl der Fälle das Pfeiffersche Phänomen vollständig ablief und nur der Tod des Tieres mit keimarmer Bauchhöhle nicht verhindert wurde. Bei Typhus fand wenigstens Granulabildung neben Vermehrung statt. Ob trotz dieses Unterschiedes nicht doch ein Zusammenhang an der Wurzel zwischen dem Pfeiffer-Friedbergerschen und den Aggressinversuchen besteht, kann hier nicht weiter untersucht werden.

Pfeiffer und Friedberger konnten ausschliefsen, dafs diese Serumwirkung durch vitale Funktion der Bakterien herbeigeführt wird, ferner dafs zurückbleibende Vibrionenkörper die Ursache sein könnten. Weiter geben sie an, dafs in Lösung gegangene Bakterienleibessubstanz nicht an der Erscheinung beteiligt sein könnte, da auch erwärmtes ($^3/_4{}^h$ 58°) Serum nach Bakterienbehandlung hemmend wirkt, und da Peritonealexsudat, das nach vorhergegangener Bakteriolyse reich an gelösten Bakterienleibern sein müfste, nichts davan erkennen läfst.

Bei Erklärung dieser eigenartigen Serumwirkung schliefsen Pfeiffer und Friedberger mit grofser Wahrscheinlichkeit das Zwischentreten von Antiambozeptoren und Antikomplementen, sowie von Komplementablenkung aus und neigen der Annahme zu, dafs es sich um noch nicht bekannte Serumstoffe (bakteriolytische Antagonisten) handeln könnte.

Die nachstehenden Versuche wurden zwar durch die Mitteilung von Pfeiffer und Friedberger unmittelbar veranlafst, aber sie waren von vornherein nicht etwa als Nachprüfung derselben angelegt, weshalb auch das Abwarten der ausführlichen Mitteilung von Pfeiffer und Friedberger nicht unbedingt erforderlich erschien. Während die genannten Autoren im Tierkörper arbeiteten, sind die eigenen Versuche ausschliefslich Reagenzglasversuche, die sich bis zu einem gewissen Grade an eine mehrere Jahre zurückliegende Arbeit des einen von uns anschlossen. Freilich dürften ihre Ergebnisse ziemlich unmittel-

bar auf die Meerschweinchenbauchhöhle übertragen werden können, da das Phänomen der Bakteriolyse daselbst schwerlich etwas anderes als ein unter besonderen Umständen angestellter Reagenzglasversuch sein kann. Tatsächlich stimmen auch die nachstehenden Versuchsresultate in sehr vielen Punkten mit denen Pfeiffer und Friedbergers überein, wenn gleich die Auslegung eine ganz andere sein mufs.

Pfeiffer und Friedberger schliefsen, wie erwähnt, aus, dafs die eigenartige Wirkung eines mit Bakterien behandelten Serums auf einer vitalen Funktion der Bakterien oder im Zurückbleiben von solchen nach dem Abzentrifugieren beruhen könnte. Ersteres ist ohne weiteres zu bestätigen, bei Begründung letzteren Punktes weichen die Reagenzglasversuche teilweise darin von den Tierversuchen ab, dafs »eine Kochsalzlösung, in der Bakterien emulsioniert waren, nach dem Abzentrifugieren der Bakterien nicht hemmend wirkt.« Der wichtigste Punkt ist aber der bereits oben erwähnte, dafs Leibessubstanzen nach Pfeiffer und Friedberger nicht in Lösung gegangen sein könnten, da hemmendes Serum ohne Bakteriolyse und umgekehrt keine Hemmungswirkung einer Flüssigkeit, in der vollständige Bakteriolyse stattgefunden hatte, erhalten werden könne. Hier gibt sich offenbar eine Lücke in den scharfsinnigen Schlufsfolgerungen der beiden Autoren kund. Denn dafür, dafs Leibessubstanz von Bakterien auch im Serum nur infolge von typischer Bakteriolyse in Lösung gehen könnte, fehlt jeder Beweis. Im Gegenteil ist schon seit langem eine sonstige Lösung von Bakterienleibern beobachtet oder angenommen worden, es sei an die Lösung durch Emmerichs Pyozyanase, an die freiwillige Auflösung älterer Bouillonkulturen erinnert und schliefslich an die sog. »freien Rezeptoren« von Neisser und Shiga[1]). Es ist zuzugeben, dafs man sich gerade von letzteren nicht leicht eine bestimmte Vorstellung machen kann, da es von vornherein nicht recht wahrscheinlich ist, dafs labile Gruppen des Bakterienkörpers sich loslösen und getrennt davon ein relativ selbständiges Dasein

1) Deutsche mediz. Wochenschrift, 1903, Nr. 4.

führen könnten. Hat man sich aber einmal diese Vorstellungsweise zu eigen gemacht, die doch eine Art Lösung voraussetzt, so könnte man die Hemmungswirkung für eine Besetzung der Serumimmunkörper mit freien Rezeptoren halten, die sich durch den Aufenthalt der Bakterien im Serum ablösen und dann als eine Art von Antiambozeptoren gelten könnten. Wenngleich ein schöner, im folgenden bestätigter Versuch von Pfeiffer und Friedberger sich direkt gegen diese Annahme richtet, (a. a. O. S. 7, Punkt 8), so beweist dieselbe doch, dafs eine Lösung von Bakterienteilen und noch dazu so wesentlichen, wie die supponierten Bakterienrezeptoren, auch ohne spezifische Bakteriolyse, wie bei Neisser und Shiga für möglich gehalten wird. Der Umstand, dafs man mit Bakterienextrakten z. B. Präzipitation erhalten (Kraus), damit immunisieren, d. h. Agglutinine und Bakteriolysine (Brieger, Neisser und Shiga) erzeugen kann, beweist das Gleiche.

In der Tat läfst sich mittels nicht bakteriolytisch erhaltener Bakterienextrakte die bakterizide Serumwirkung mehr weniger vollständig aufheben. Als Extraktionsflüssigkeit kann Serum oder physiologische Kochsalzlösung (auch Wasser, schwache Ammonkarbonat- oder Ammonsulfatlösung) verwendet werden. In den folgenden Versuchen wurde vorwiegend die als indifferent angesehene, neutrale 0,8proz. NaCl-Lösung verwendet, die ebenso wie Serum am besten wirkt, wenn sie $^1/_2$—1 h bis 60° auf Bakterien wirken kann.[1] Die allermeisten Versuche wurden mit dem Choleravibrio, nur zur Ergänzung auch solche mit dem Typhusbazillus angestellt. In der Regel wurde nur mit Kaninchenserum, das einen Zusatz von Choleraimmunserum (von Herrn Prof. Pfeiffer in liebenswürdiger Weise überlassenes Serum einer immunisierten Ziege) erhielt, gearbeitet.

Tabelle I.

3 junge Choleraagarkulturen wurden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zu je $^1/_2$ Kultur in Eprouvetten verteilt. Durch Zentrifugieren mit vieler NaCl-Lösung werden die Vibrionen gewaschen und die Bodensätze wie folgt behandelt:

1) Vgl. Shiga, Berl. klin. Wochenschrift, 1904, Nr. 4.

a) In 1,5 ccm aktivem Kaninchenserum 1 Std. bei 37° belassen, zentrifugiert und dann die klare Flüssigkeit 1 Std. auf 60° erwärmt.
b) In 1,5 ccm aktivem Kaninchenserum 1 Std. bei 60° erwärmt, dann zentrifugiert.
c) Wie a mit inaktivem (½ Std. auf 60° erwärmtem) Kaninchenserum.
d) Wie b mit inaktivem Serum.
e) Wie a mit Na Cl-Lösung.
f) Wie b mit Na Cl-Lösung.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kaninch.-Serum + 0,0001 Immunserum	Über 30 000	0
2. » + » + 0,01 a		48
3. » + » + 0,1 a		431
4. » + » + 0,01 b		152
5. » + » + 0,1 b		368
6. » + » + 0,01 c		22
7. » + » + 0,1 c		1120
8. » + » + 0,01 d		21
9. » + » + 0,1 d		720
10. » + » + 0,01 e		528
11. » + » + 0,1 e		764
12. » + » + 0,01 f		800
13. » + » + 0,1 f		ca. 20 000
14. » + » + 0,1 Kaninch.-Serum		0
15. » + » + 0,1 Inakt. Kan.-Serum		6
16. » + » + 0,1 Na Cl-Lösung		112

Die Hemmung der Bakterizidie tritt deutlich hervor. Merkwürdigerweise bleiben die gleichen Extrakte auf frisches Schweineserum (ohne künstlichen Immunkörperzusatz) ohne Wirkung. Ebenso konnte Rinder-, Pferde- und Schafserum durch Bakterienextrakte, die in gleicher Weise mit den Seris selbst, mit Kaninchenserum und Na Cl-Lösung hergestellt waren, nicht unwirksam gemacht werden, während Schweine- und Ziegenserum mit Choleravibrionen, in der angegebenen Weise behandelt, Kaninchenserum stark beeinflufsten. Über die Gründe dieser Erscheinung wurden weitere Untersuchungen nicht angestellt, doch läfst sich vermuten, dafs der natürlich hohe Immunkörpergehalt dieser Sera das Wesentliche ist.

Am interessantesten sind natürlich die mit Na Cl-Lösung hergestellten Extrakte, bei deren Herstellung von einer besonderen Bakteriolyse keine Rede sein kann. Sie sind ungleich wirksamer, wenn sie bei 60° als bei 37° gewonnen werden; namentlich letztere schwanken in ihrer Wirkung einigermafsen, was wohl mit der Menge und dem Alter der zur Extraktion verwendeten Kulturen zusammenhängt. Ganz junge, ca. 15stündige Kulturen sind die geeignetsten.

Tabelle II.

2 junge Choleraagarkulturen wurden in NaCl-Lösung aufgeschwemmt und in 4 Teile geteilt, dann zentrifugiert. Nach dem Abgiefsen der Zentrifugate wurden die Bodensätze in folgender Weise behandelt:

a) Ein Teil der gewaschenen Vibrionen + 1,0 ccm Kaninchenserum 1 Std. bei 37°.

b) Ein Teil der gewaschenen Vibrionen + 1,0 ccm Kaninchenserum 1 Std. bei 60°.

c) Wie a mit NaCl-Lösung.

d) Wie b mit NaCl-Lösung.

Dann völlig klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Serum Pfeiffer + 0,1 Na Cl-Lös.	ca. 5000	56
2. » » + » + 0,1 a		8 480
3 » » + » + 0,1 b		ca. 10 000
4. » » + » + 0,1 c		1 792
5. » » + » + 0,1 d		5 760
6. 1,0 ccm Rind.-Serum + 0,1 ccm NaCl-Lösung		0
7. » » + 0,1 a		0
8. » » + 0,1 b		0
9. » » + 0,1 c		0
10. » » + 0,1 d		0

Beim Zentrifugieren von Cholerabakterien, die bei 60° mit Na-Cl-Lösung hergestellt sind, bemerkt man ganz deutlich, dafs tatsächlich sehr starke Veränderungen mit der Bakterienmasse vor sich gegangen sein müssen. Dieselbe wird schleimig und bleibt zusammenhängend beim leichten Zentrifugieren oder wenn sie in grofser Menge frischer Na Cl-Lösung gegossen wird. Erst durch kräftiges Schütteln läfst sie sich zerteilen, durch kräftiges Zentrifugieren als fester Bodensatz abscheiden. Bei Typhusbazillen ist das weniger deutlich.

Tabelle III.

2. Agarkulturen junger Cholera werden in 1,0 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und 1 Std. bei 60° gehalten. Von der dadurch erhaltenen halbgeronnenen Masse wird je $^1/_6$ zugesetzt zu:

a) 1,0 ccm aktivem Kaninchenserum und $^1/_2$ Std. bei 37° gehalten.
b) » » » » » » » 60° »
c) 1,0 ccm NaCl-Lösung wie a.
d) » » » b.
e) 1,0 ccm inaktivem Kaninchenserum wie a.
f) » » » » b.

Dann alle Proben völlig klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,1 NaCl	ca. 8000	12
2. » » + » + 0,1 a		8 000
3. » » + » + 0,1 b		ca. 10 000
4. » » + » + 0,1 c		6 848
5. » » + » + 0,1 d		ca. 15 000
6. » » + » + 0,1 e		5 376
7. » » + » + 0,1 f		5 696

Tabelle IV.

Dieselben Flüssigkeiten wie in Tab. III werden in der Kälte aufbewahrt und am andern Tage zu Versuchen verwendet.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,1 NaCl	Über 20 000	672
2. » » + » + 0,1 a		Über 20 000
3. » » + » + 0,1 b		
4. » » + » + 0,1 c		
5. » » + » + 0,1 d		
6. » » + » + 0,1 e		
7. » » + » + 0,1 f		
8. » » + 0,0005 Pfeiffersches Serum + 0,1 NaCl		544
9. » » + » + 0,1 a		2016
10. » » + » + 0,1 b		1568
11. » » + » + 0,1 c		5284
12. » » + » + 0,1 d		3808
13. » » + » + 0,1 e		2944
14. » » + » + 0,1 f		3104

Auch bei der Versuchsanordnung, die in Tabelle III und IV eingehalten wurde, tritt der Einflufs der Bakterienextrakte überall deutlich hervor. Aus Tab. IV geht aber noch weiter hervor, dafs die hemmende Wirkung mit steigendem Immunkörpergehalte des Serums geringer wird.

Tabelle V.

a) 1 Choleraagarkultur + 1 ccm Kaninchenserum.
b) 1 » + 1 ccm NaCl-Lösung.
Beide Proben 1 Std. bei 60° extrahiert und dann klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,1 NaCl	12—15 000	ca. 20 000
2. » » + 0,1 a		∞
3. » » + 0,1 b		∞
4. » » + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,1 NaCl		3 680
5. » » + » + 0,1 a		∞
6. » » + » + 0,1 b		∞
7. » » + 0,001 » + 0,1 NaCl		2 688
8. » » + » + 0,1 a		ca. 10 000
9. » » + » + 0,1 b		5 184
10. » » + 0,005 » + 0,1 NaCl		8
11. » » + » + 0,1 a		352
12. » » + » + 0,1 b		720

Aus diesem Befunde läfst sich mit Sicherheit eine Einwirkung des hemmenden Extraktes erschliefsen, die sich zum mindesten vorwiegend, wenn nicht gänzlich gegen den Immunkörper richtet. Diese Feststellung stimmt ganz mit der Ermittelung von Pfeiffer und Friedberger in Tierversuchen überein.

Bezüglich eines anderen Punktes war die Übereinstimmung in einigen Fällen ebenfalls zu erzielen. Pfeiffer und Friedberger geben an, dafs es ihnen gelungen sei, mit Kaninchenserum, nicht aber mit Meerschweinchenserum, die mit Vibrionen behandelt waren, bakteriolytischen Antagonismus im Meerschweinchenversuch zu erzielen. Auf den Reagenzglasversuch übertragen, würde das heifsen, dafs Meerschweinchenserum + Immunkörper

wohl durch ein mit Vibrionen behandeltes Kaninchenserum, nicht aber durch ein ebenso behandeltes Meerschweinchenserum gehemmt würde. Entsprechend auch beim Kaninchenserum. In einem Falle ergab der bakterizide Glasversuch wirklich dieses Resultat, ebenso auch, dafs mit Na-Cl-Lösung bei 37° hergestellte Extrakte unwirksam waren. Bei 60° extrahierte Vibrionen machten jedes Serum und auch Kochsalzlösung hemmend.

Tabelle VI.

a) ¹/₇ Agar-Cholerakultur + 1,0 ccm Meerschweinchenserum 1 Std. bei 37°.
b) » » 1 » » 60°.
c) Wie a mit Kaninchenserum.
d) Wie b mit Kaninchenserum.
e) Wie a mit NaCl-Lösung.
f) Wie b mit NaCl-Lösung.
Dann klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Meerschw.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum	Über 50 000	0
2. » » + » +0,1 a		4
3. » » + » +0,1 b		2 432
4. » » + » +0,1 c		ca. 10 000
5. » » + » +0,1 d		ca. 15 000
6. » » + » +0,1 e		5
7. » » + » +0,1 f		192
8. 1,0 ccm Kaninchenserum + 0,0001 Pfeiffersches Serum		0
9. » » + » +0,1 a		2 272
10. » » + » +0,1 b		ca. 10 000
11. » » + » +0,1 c		88
12. » » + » +0,1 d		ca. 10 000
13. » » + » +0,1 e		0
14. » » + » +0,1 f		1 248

Es lag wohl an der Verwendung gröfserer Choleramengen, wenn sonst auch durch Kochsalzlösung und jedes Serum bei 37° wirksame Extrakte erhalten wurden.

Bei einigem Probieren würde man wohl noch wirksamere Extraktionsmethoden finden können, z. B. mit Wasser oder stark verdünnten Salzlösungen.

Tabelle VII.

Eine gröfsere Menge von Choleravibrionen mit Na Cl-Lösung aufgeschwemmt und dazu Ammoniumkarbonatlösung bis zur deutlich allkalischen Reaktion zugesetzt und 1 Std. bei 60° extrahiert, dann ca. $1\frac{1}{2}$ Tage lang zentrifugiert. Dadurch wurde eine obere, leicht opaleszierende Schicht von dem bazillenhaltigen Bodensatz tadellos getrennt. Diese klare Flüssigkeit diente zum folgenden Versuch:

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Meerschw.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum	Über 50 000	1984
2. » » + » + 0,01 Extr.		ca. 15 000
3. » » + » + 0,05 »		∞
4. » » + » + 0,1 »		∞
5. » » + » + 0,25 »		∞
6. » » + » + 0,25 Na Cl		1 856
7. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,1 »		36
8. » » + » + 0,01 Extr.		10 880
9. » » + » + 0,05 »		ca. 30 000
10. » » + » + 0,1 »		∞

Die Wirkung der hemmenden Extrakte richtet sich gegen den Immunkörper des Choleraimmunserums, es läfst sich aber durch Zusatz von Immunkörper zur Flüssigkeit, mit welcher die Vibrionen ausgezogen werden, eine stärkere, hemmende Flüssigkeit nicht erzielen. Es bleibt vielmehr dann der Immunkörper so vollständig erhalten, dafs Extraktionsflüssigkeiten mit höherem Immunkörpergehalt weniger stark, als solche mit geringerem oder gar keinem, hemmen. Es ist dabei gleichgültig, ob man ein Immunserum oder ein Serum mit natürlichem, hohem Immunkörpergehalt, z. B. Rinderserum, verwendet.

Tabelle VIII.

a)	$^1/_5$ Agar-Cholerakultur	+ 1,0 ccm	Na Cl-Lösung.	
b)	»	+	»	+ 0,00005 Pfeiff. Serum.
c)	»	+	»	+ 0,0001 »
d)	»	+	»	+ 0,0005 »
e)	»	+	»	+ 0,001 »
f)	$^1/_{10}$ Agar-Cholerakultur	+ 0,01	Rinderserum	+ 0,99 Na Cl
g)	»	+ 0,05	»	+ 0,95 »
h)	»	+ 0,1	»	+ 0,9 »
i)	»	+ 0,25	»	+ 0,75 »
j)	»	+ 0,9	»	+ 0,1

Alle Proben 1 Std. bei 37° belassen und dann völlig klar zentrifugiert.

	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,0001 Pfeiffersches Serum + 0,15 Na Cl	ca. 20 000	48
2. » » + » + 0,15 a		10 240
3. » » + » + 0,15 b		ca. 15 000
4. » » + » + 0,15 c		10 560
5. » » + » + 0,15 d		ca. 15 000
6. » » + » + 0,15 e		7 680
7. » » + » + 0,15 f		ca. 15 000
8. » » + » + 0,15 g		4 960
9. » » + » + 0,15 h		4 160
10. » » + » + 0,15 i		2 240
11. » » + » + 0,15 j		41

Bereits aus diesem Versuche ergibt sich mit Wahrscheinlichkeit, dafs ein Etwas, das nur den Vibrionen selbst entstammen kann, die Wirkung des Immunkörpers hemmt, ohne direkt in ihn einzugreifen. Immerhin wäre bei diesem Versuch noch an eine Erklärung durch freie Rezeptoren, die am Immunkörper angreifen und so als eine Art Antiambozeptor wirken würden, zu denken. Wirkliche Antiambozeptoren und Antikomplemente sind schon nach der Gewinnungsweise der hemmenden Flüssigkeiten ausgeschlossen. Dafs für solche freie Rezeptoren quantitative Bindungsverhältnisse an die Immunkörper gelten und das Ergebnis von Tab. VI erklären könnten, ist zuzugeben.

Es blieb also zu entscheiden, ob wirklich die hemmende, durch Extraktion bei 60° gelöste Vibrionensubstanz den Immunkörper etwa durch Bindung direkt beeinflufst. Wäre dies der Fall, so müfste ein Immunserum, das mit hemmender Flüssigkeit versetzt ist, unfähig sein, sich mit dem darin enthaltenen Immunkörper an zugefügte Vibrionen anzulegen; diese müfsten daher nach Zusatz von normalem Kaninchenserum, als Komplement, nicht stärker als ohne vorherige Immunserumbehandlung beeinflufst werden. Dies würde um so eher der Fall sein, als man bei einem Erklärungsversuche durch freie Rezeptoren zu der zweiten, allerdings ganz willkürlichen Annahme gezwungen wäre,

für diese eine gröfsere, mindestens aber die gleiche Affinität zu den Immunkörpern, als sie den normalen Bakterien zukommt, zu fordern.

Tabelle IX.

Der hemmende Extrakt wurde aus 2 jungen Agarkulturen von Cholera in 2,0 ccm Kochsalzlösung durch 1 Std. Erwärmnng auf 60° hergestellt und klar zentrifugiert. Zur Einsaat wurden Vibrionen benutzt, die in folgender Weise behandelt wurden:

Cholera a) $^1/_4$ Agarkultur + 0,001 ccm Serum Pfeiffer in 1,0 ccm NaCl-Lösung,
» b) $^1/_4$ » + 0,01 » » » » »

Beide wurden 1 Std. bei 37° belassen und dann zentrifugiert; die Vibrionensätze wurden mit NaCl-Lösung gewaschen und wieder aufgeschwemmt.

	Einsaat	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,25 NaCl-Lösung	Cholera a	ca. 50 000	ca. 10 000
2. » » + 0,15 » + 0,1 Extr.	Cholera a	ca. 50 000	über 20 000
3. » » + 0,25 Extrakt	Cholera a	ca. 50 000	» 30 000
4. Wie 1	Cholera b	ca. 30 000	68
5. » 2	Cholera b	ca. 30 000	» 20 000
6. » 3	Cholera b	ca. 30 000	» 50 000

Während der Sernmeinwirkung war Cholera b vollständig, Cholera a zum Teil agglutiniert worden.

Tabelle X.

Der hemmende Extrakt wird durch 1 stündige Erwärmung auf 60° von 2 Choleraagarkulturen in 2,0 ccm NaCl-Lösung gewonnen und klar zentrifugiert. Die zu den Einsaaten bestimmten Vibrionen werden durch Zusatz einer Verdünnung von Sernm »Pfeiffer« 0,1 ccm : 0,9 ccm in folgender Weise vorbehandelt:

Cholera a) 0,01 ccm Serumverdünnung + 0,49 ccm NaCl-Lösung,
» b) 0,05 » » + 0,45 » »
» c) 0,1 » » + 0,4 » »
» d) 0,05 » » + 0,2 » » + 0,25 ccm Extr.

Nach 10 Minuten langem Stehen dieser Proben wird jeder derselben $^1/_{10}$ Choleraagarkultur in 0,5 ccm NaCl-Lösung zugesetzt, 1 Std. bei 37° gehalten, dann zentrifugiert. Der gewaschene und wieder aufgeschwemmte Vibrionensatz dient zur Einsaat.

	Einsaat	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan. Serum + 0,25 NaCl-Lösung	Cholera a	Über 50 000	1 660
2. » » + 0,15 » + 0,1 Extr.	Cholera a	Über 50 000	ca. 30 000
3. » » + 0,25 Extrakt	Cholera a	Über 50 000	∞
4. Wie 1	Cholera b	Über 50 000	8
5. » 2	Cholera b	Über 50 000	über 50 000
6. » 3	Cholera b	Über 50 000	∞
7. » 1	Cholera c	Über 50 000	0
8. » 2	Cholera c	Über 50 000	2 080
9. » 3	Cholera c	Über 50 000	über 50 000
10. » 1	Cholera d	Über 50 000	136
11. » 2	Cholera d	Über 50 000	∞
12. » 3	Cholera d	Über 50 000	∞

Tabelle XI.

Extrakt wie in Tab. X hergestellt. Verdünnung von Serum »Pfeiffer« 0,1 : 0,9 ccm NaCl-Lösung:

Cholera a) 0,05 ccm Serumverdünnung + 0,7 ccm NaCl-Lösung,
» b) 0,25 » » + 0,5 » » + 0,5 ccm Extr.
» c) 0,05 » » + 0,2 » »
» d) 0,25 » » + 0,5 ccm Extrakt.

Nach $^{1}/_{4}$ stünd. Stehenlassen wird überall 0,25 ccm NaCl-Lösung, in der je $^{1}/_{10}$ Choleraagarkultur aufgeschwemmt ist, zugesetzt. Nach 1 stünd. Aufenthalt bei 37° wird abzentrifugiert und der gewaschene Vibrionensatz zur Einsaat verwendet.

	Einsaat	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kan.-Serum + 0,15 NaCl-Lösung	Cholera a	12 bis 15 000	0
2. » » + 0,1 » + 0,05 Extr.	Cholera a	12 bis 15 000	496
3. » » + 0,15 Extrakt	Cholera a	12 bis 15 000	∞
4. Wie 1	Cholera b	ca. 20 000	0
5. » 2	Cholera b	ca. 20 000	184
6. » 3	Cholera b	ca. 20 000	2 656
7. » 1	Cholera c	ca. 20 000	0
8. » 2	Cholera c	ca. 20 000	ca. 30 000
9. » 3	Cholera c	ca. 20 000	∞
10. » 1	Cholera d	ca. 20 000	0
11. » 2	Cholera d	ca. 20 000	10
12 » 3	Cholera d	ca. 20 000	6 336

Tabelle XII.

Extrakt wie in Tab. X mit 3 Agarkulturen in 3 ccm NaCl-Lösung hergestellt. Verdünnung von Serum »Pfeiffer« 0,1 : 0,9 NaCl-Lösung:

Cholera a) 0,05 ccm Serumverdünnung + 1,0 ccm NaCl Lösung,
» b) 0,25 » » + » »
» c) 0,05 » » + 1,0 ccm Extrakt,
» d) 0,25 » » + » »

Nach 1/4 stünd. Stehenlassen wird überall 1/10 Choleraagarkultur in 0,1 ccm NaCl-Lösung zugesetzt, dann wie früher vorgegangen.

	Einsaat	Sofort	Nach 4 Stunden
1. 1,0 ccm Kaninchenserum + 0,09 NaCl-Lösung	Cholera a	ca. 30 000	126
2. » » + 0,09 Extrakt			∞
3. Wie 1	Cholera b		0
4. » 2			1 504
5. » 1	Cholera c		704
6. » 2			∞
7. » 1	Cholera d		104
8. » 2			ca. 20 000

Die in den letzten vier Tabellen angeführten Versuche widerlegen zunächst jeden Erklärungsversuch mit Hilfe von freien Rezeptoren. Würden solche durch Anlagerung an den Immunkörper des Serums die weitere Wirkung desselben auf Choleravibrionen verhindern, so wäre nicht einzusehen, warum sie sich nicht sofort mit demselben verbinden, wenn noch gar keine Vibrionen in der Mischung von Immunserum und Vibrionenextrakt vorhanden sind. Die später in eine solche Mischung eingebrachten Vibrionen müfsten dann nach Zusatz von Komplement unbehelligt wachsen können oder nur jene Einwirkung erfahren, welche dem natürlichen Immunkörpergehalt des als Komplement dienenden Kaninchenserums entspricht. Bei den hier zur Anwendung gelangten hohen Einsaaten kann der letztere übrigens ganz vernachlässigt werden; denn kein normales Kaninchenserum vermag dabei noch zu wirken (vgl. dazu überdies Tab. X, wo in der ersten Reihe das Immunserum in wenigster Menge angewendet worden war).

Die Versuche zeigen aber deutlich, daſs selbst die gröſsten Mengen hemmender Substanz die Sensibilisierung (Bordet) oder Präparierung (Gruber) durch das Immunserum nicht wesentlich hindern können.

Denn einen dieser beiden Ausdrücke wird man wählen müssen, da die Versuche auch geeignet sind, gegen die Annahme einer Bindung (nach Art der chemischen Bindung) des Immunkörpers an die Vibrionen die schwersten Bedenken hervorzurufen. Während 1 stündigen Aufenthaltes bei 37°, den man wegen des Eigenwachstums der Bakterien ja kaum länger ausdehnen darf, muſs die Bindung des Immunkörpers an die Vibrionen erfolgt sein und solche Bakterien müſsten im gröſsten Maſsstabe nach Komplementzusatz abgetötet werden, wie dies ja auch tatsächlich der Fall ist. Wenn der gleichzeitige Zusatz des Vibrionenextraktes die Abtötung verhindert, so wäre eine Erklärung nach der Ehrlichschen Vorstellungsweise nur noch durch eine Art antikomplementärer Wirkung oder dadurch möglich, daſs nicht die zytophile, sondern die komplementophile Gruppe des Ambozeptors besetzt wird. Ersteres wird durch die schon angeführten Versuche widerlegt, daſs die gleiche Menge Komplement trotz Anwesenheit wirksamer Hemmungsextrakte sehr wohl zu wirken vermag, wenn der Immunkörpergehalt erhöht wird; das Komplement an sich wird also gar nicht beeinfluſst. Bei der zweiten Annahme, die mit Rücksicht auf die der komplementophilen Gruppe zugeschriebenen funktionellen Beschaffenheit nicht recht wahrscheinlich klingt, entsteht wieder die Frage, warum denn nicht ihre Besetzung auch bei bloſser Anwesenheit von Immunkörpern und hemmenden Extrakten erfolgt.

Es bliebe demgegenüber nur noch die Annahme offen, daſs der Extrakt nur dann auf den Immunkörper wirkt, wenn nicht dieser allein, sondern in Verbindung mit dem Komplement als fertiges Bakteriolysin vorhanden ist. Dann müſste er einzig und allein durch Besetzung der zytophilen Gruppe, d. h. wieder als freier Rezeptor wirken, da ja die komplementophile bereits von Komplement besetzt wäre oder schnellstens besetzt würde. Es wäre also wieder ein freier Rezeptor, an den man denken

müfste. Nun zeigten aber Tab. IX—XII aufs deutlichste, dafs isolierte und an die Vibrionen gebundene Immunkörper mit dem Komplement ein fertiges und wirksames Bakteriolysin liefern, das erst durch neuerlichen Zusatz des Extraktes gehemmt wird. Es müfste also der freie Rezeptor eine so grofse Affinität zu dem fertigen Bakteriolysin besitzen, dafs er dasselbe in kürzester Zeit, noch ehe es wirken kann, von den Bakterien losreifsen und an sich fesseln würde. Diese Annahme würde wohl kaum ernstlich in Diskussion gestellt werden können.

Es ist somit nicht möglich, diese einfachen Versuche durch die Ehrlichsche Theorie zu erklären. Hält man an der Existenz bestimmter, eigener, bakterientötender Stoffe im Serum fest, so bleibt nur die Annahme Bordets, der auch Gruber im wesentlichen zustimmte, übrig, dafs eine Sensibilisierung oder Präparierung nicht im Sinne einer chemischen Bindung, sondern eines zurzeit noch nicht näher zu definierenden physikalischen Vorganges erfolgt, wodurch dann die Alexinwirkung erleichtert wird. Diese Präparierung ist dann eine Art von Adsorption, die nicht notwendigerweise genau quantitativ erfolgen müfste und daher im Überschusse eintreten kann. Damit wäre dann leicht erklärt, dafs Vibrionen, die der Wirkung starker Serumkonzentration ausgesetzt waren, nachträglich nach Zusatz von Komplement trotz Anwesenheit hemmenden Extraktes noch bis zu einem gewissen Grade abgetötet werden.

Es fragt sich nur, ob es nicht noch besser wäre, die Annahme besonderer bakteriolytischer Stoffe ganz fallen zu lassen und nur einen besonderen physikalisch-chemischen Zustand zu berücksichtigen, vermöge dessen Bakteriolyse und ihre Hemmung erklärt werden könnten.

In dieser Richtung sollen weitere Versuche angestellt werden.

Soweit Versuche mit Typhusbazillen gemacht wurden, stimmten sie in ihren Ergebnissen mit denen bei Cholera überein, nur dafs die bakterizide Wirkung der Sera schwächer war, wie dies ja für Typhus gewöhnlich ist.

Über Agglutinationsbehinderung der Typhusbazillen.

Von

Dr. Edmund Weil,
Assistenten des Institutes.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

Pfeiffer und Friedberger[1]) konnten normales Kaninchenserum durch Behandlung von Typhusbazillen und Choleravibrionen in einen Zustand versetzen, daſs dasselbe im Tierkörper die bakterizide Wirkung eines Immunserums aufhebt. Die Autoren schlieſsen die Wirkung von Antikomplementen und Antiambozeptoren aus und nehmen an, daſs dadurch, daſs die Typhusbazillen und Choleravibrionen im normalen Serum Stoffe binden, — dasselbe eine Substanz von der eben genannten Funktion in Wirksamkeit treten läſst, welche bakteriolytischer Antagonist benannt wird. Daſs diese Substanz nicht aus den Bakterienleibern stammen könne, beweisen sie damit, daſs auch inaktiviertes Serum, bei welchem es nicht zur Bakteriolyse kommen kann und demnach Leibessubstanzen aus den Bakterien nicht frei werden könnten, dieselbe Wirkung entfaltet, und daſs Kochsalzlösung, mit Bakterien behandelt, stets unwirksam ist. Bail und Kikuchi[2]) konnten durch ihre Versuche den Nachweis erbringen, daſs diese Substanz aus den Bakterien stammen müsse,

1) Deutsche med. Wochenschr., 1905, Nr. 1.
2) Archiv f. Hygiene, s. dieses Heft.

da sie stets in stärkster Wirksamkeit in Kochsalzlösung vorhanden ist, welche bei 60° auf die Bakterien eingewirkt hat, jedoch meist nicht bei 37°, welche Temperatur Pfeiffer und Friedberger bei ihren Kontrollversuchen mit Kochsalzlösung gewählt hatten.

Die grofse Ähnlichkeit betreffs des Mechanismus aller Immunitätsreaktionen, speziell der Bakteriolyse und Agglutination, boten die Veranlassung, zu untersuchen, ob ähnliche Verhältnisse nicht auch für die Agglutination Gültigkeit haben. Die nachfolgenden Untersuchungen nehmen von folgendem Versuche ihren Ausgang: Man schwemmt eine üppig gewachsene Agarkultur in 1 ccm Kochsalzlösung ab, setzt sie 1 Stunde der Temperatur von 60° aus und zentrifugiert hierauf die Bakterien bis zur vollständigen Klärung der Flüssigkeit ab. Verreibt man in diese Flüssigkeit Typhusbazillen, so weisen dieselben nach Zugabe von agglutinierendem Serum eine ungemein starke Hemmung der Agglutination auf.

Um die Bedingungen, unter welchen ein möglichst wirksamer Extrakt zu erlangen ist, kennen zu lernen, wurde folgender Versuch angestellt:

a) Die Bakterienmasse einer Agarkultur in 1 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten.
b) Die 10fache Verdünnung dieser Bakterienmenge, sonst wie a.
c) Wie a, nur 4 Stunden bei 37° gehalten.
d) Wie b, » » » » » »
e) Wie a, » 1 Stund » 60° »
f) Wie b, » » » » » »
g) Wie a, » » » » 100° »
h) Wie b, » » » » » »

Alle Röhrchen wurden hierauf durch Zentrifugieren von den Bakterien befreit und zu jedem vier Tropfen einer dichten Agaraufschwemmung von Typhusbazillen gegeben, so dafs eine sehr deutliche Trübung zustande kam. Nach ¼stündigem Verweilen bei 37° wurde ein Tropfen agglutinierendes Serum hinzugesetzt, so dafs die entsprechende Verdünnung zustande kam. Bakterien und Serum wurden deshalb mit wenig Flüssigkeit

hinzugefügt, damit eine wesentliche Verdünnung des Extraktes nicht zustande kam. Die beifolgende Tabelle gibt Aufschlufs über die Wirksamkeit der verschiedenen Bakterienextrakte.

Tabelle I.

Serumverdünnung 1 : 700.

Zusatz von Extrakt	1/4 Stunde	1/2 Stunde	1 Stunde	1 1/2 Stunden	2 Stunden
a)	++	+++	+++	+++	+++
b)	++	+++	+++	+++	+++
c)	++	+++	+++	+++	+++
d)	++	+++	+++	+++	+++
e)	—	—	—	—	—
f)	—	+	+	++	++
g)	—	—	—	—	—
h)	—	+	+	++	++
Kontrolle	++	+++	+++	+++	+++

Um also eine hemmende Substanz von starker Wirkung zu erreichen, mufs man grofse Bakterienmengen verwenden; denn wie aus der vorangehenden Tabelle ersichtlich ist, tritt zwar auch in der zehnfachen Verdünnung eine erhebliche Hemmung der Agglutination ein, ein vollständiges Versagen jedoch nur bei Extrakten, die aus einer grofsen Bakterienmasse gewonnen sind. Die geeignetste Temperatur zur Gewinnung des Extraktes liegt zwischen 60° und 100°. Die Wirkung versagt bei 37° und niederer Temperatur.

Wie stark die Hemmung in den verschiedenen Serumkonzentrationen ist, zeigt Tabelle II (auf S. 294). Der hier zur Verwendung gelangte Bakterienextrakt wurde auf die Weise gewonnen, dafs die gesamte Bakterienmasse einer Kolleschen Schale in 8 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und eine Stunde zwischen 60° und 65° gehalten wurde. Bakterien und agglutinierendes Serum wurden in der oben beschriebenen Weise hinzugefügt.

Tabelle II.

Typhusbazillen, in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Serum-verdünnung	1/4 Stunde	1/2 Stunde	1 Stunde	1 1/2 Stunden	2 Stunden
1 : 100	++	+++	+++	+++	+++
1 : 700	++	+++	+++	+++	+++
1 : 1400	+	++	+++	+++	+++
1 : 2800	–	+	+	+	++
1 : 7000	–	–	–	+	+

Typhusbazillen, in 1 ccm Bakterienextrakt aufgeschwemmt.

Serum-verdünnung	1/4 Stunde	1/2 Stunde	1 Stunde	1 1/2 Stunden	2 Stunden
1 : 100	–	–	–	–	+
1 : 700	–	–	–	–	–
1 : 1400	–	–	–	–	–
1 : 2800	–	–	–	–	–
1 : 7000	–	–	–	–	–

Die hier erzielte Hemmung ist eine so starke, dafs nur in der Konzentration 1 : 100 nach 2 Stunden bei 37° der erste Beginn der Agglutination zu beobachten ist. In allen übrigen Konzentrationen ist die Reaktion eine negative. Bei Stehenbleiben über Nacht tritt in allen Röhrchen etwas Bodensatz ein, was wohl auf mechanische Senkung der Bakterien zu beziehen ist.

Um über den Mechanismus der hemmenden Substanz Aufschlufs zu erlangen, mufs vor allem daran festgehalten werden, dafs dieselbe aus den Bakterien stammt. Nach den jetzigen Anschauungen kennen wir in den Typhusbazillen zwei Substanzen, welche durch Beeinflussung durch das Agglutinin die Agglutination auslösen, und zwar die bindende Substanz oder die Bakterienrezeptoren, welche die Verankerung des Agglutinins besorgen, und die fällbare oder agglutinierbare Substanz, an deren Intaktheit die sichtbare Agglutination geknüpft ist. Eine einfache Überlegung bringt den Gedanken nahe, dafs die von der Kochsalzlösung extrahierte Substanz die Bakterienrzeptoren sein könnten; denn man kann sich sehr leicht vorstellen, dafs dieselben, einer Bakterienaufschwemmung zugesetzt, das Agglutinin

binden, so dafs dasselbe zu den fixen Bakterienrezeptoren nicht gelangen kann. Eine Agglutination müfste demnach ausbleiben. Man mufs dabei allerdings annehmen, dafs die freien Rezeptoren eine gröfsere Bindungskraft für das Agglutinin besitzen, als die fixen Bakterienrezeptoren, eine Annahme, die man zur Erklärung verschiedener Immunitätsreaktionen zu machen gezwungen ist. Es ist nicht zu bezweifeln, dafs die hemmenden Extrakte, mit denen gearbeitet wurde, denen von Neifser und Shiga[1]), trotz der in einigen unwesentlichen Punkten abweichenden Darstellungsart, entsprechen. Die hemmende Wirkung, die auch die genannten Autoren feststellen, die in unseren Extrakten wegen der ungleich gröfseren Bakterienmengen, die verwendet werden, in verstärktem Mafse .vorhanden war, führen dieselben direkt auf die von ihnen so benannten »freien Rezeptoren« zurück.

Entspricht also die hemmende Substanz im Bakterienextrakte den freien Rezeptoren, so mufsten dieselben folgende Bedingungen erfüllen: 1. Durften sie die Bakterien nicht beeinflussen, 2. mufsten sie das Agglutinin binden. Beides mufste sich experimentell nachweisen lassen.

Um den ersten Punkt zu erweisen, mufste gezeigt werden, dafs Typhusbazillen, die mit dem Bakterienextrakte in Kontakt gewesen sind, in ihrer Agglutinabilität vollständig unverändert sind, was auch tatsächlich der Fall ist; denn die in der hemmenden Substanz suspendierten, abzentrifugierten und gewaschenen Bakterien zeigen nach Zusatz von agglutinierendem Serum dieselbe Agglutinierbarkeit wie vorher, ein Beweis dafür, dafs die hemmende Substanz von den Bakterien nicht gebunden wird, was ja schon vorauszusehen war.

Verschiedene Versuche standen zu Gebote, um den zweiten Punkt zu beweisen. Aus Tabelle II ist zu entnehmen, dafs 1 ccm Bakterienextrakt die Serumkonzentration 1 : 100 sehr stark hemmt, wobei die Bakterien in der Kochsalzaufschwemmung in der 70fach schwächeren Konzentration (1:700) agglutiniert werden. Wirkt nun die hemmende Substanz im Bakterien-

1) Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 4.

extrakt als freier Rezeptor, so wird er als solcher das Agglutinin binden und die Agglutination nicht ermöglichen. Da man jedoch die hemmende Substanz im Bakterienextrakt vom agglutinierenden Serum nicht trennen kann, um so die Einwirkung auf das Agglutinin zu beweisen, so mufs man mit solchen Verdünnungen arbeiten, bei welchen das agglutinierende Serum noch Agglutination hervorbringt, die hemmende Substanz jedoch die Agglutination zu verhindern nicht mehr imstande ist. Zum genaueren Verständnis des eben Gesagten sei ein solcher Versuch geschildert.

Man setzt zu 1 ccm Bakterienextrakt 3 Tropfen der Serumverdünnung 1 : 3, woraus dann die Verdünnung 1 : 30 resultiert. Nach ½ stündigem Verweilen im Brutschrank setzt man davon 1 Tropfen zu 1 ccm Bakterienaufschwemmung in Kochsalzlösung. Die Bakterien sind hier der Serumverdünnung 1 : 900 ausgesetzt (Röhrchen I.) Ferner setzt man zu 1 ccm Kochsalzlösung ebenfalls 3 Tropfen der Serumverdünnung 1 : 3 und gibt 1 Tropfen davon zu 1 ccm Bakterienemulsion (Röhrchen II). Zu Röhrchen III, welches Röhrchen II vollständig entspricht, setzt man vor der Serumzugabe 1 Tropfen Bakterienextrakt, welche Menge auch in Röhrchen I enthalten ist; blofs hat der Bakterienextrakt hier nicht Gelegenheit gehabt, in so konzentriertem Zustande auf das Serum (Kontrolle) einzuwirken wie bei Röhrchen I. Während also in Röhrchen II prompt Agglutination eintritt, in Röhrchen III nur geringe Hemmung infolge des Tropfens Bakterienextraktes zu beobachten ist, bleibt in Röhrchen I die Agglutination während zweistündiger Beobachtung aus. Die Deutung dieses scheinbar komplizierten Versuches ist einfach die, dafs die hemmende Substanz im Bakterienextrakt das Serum unwirksam macht, ebenso wie etwa freie Rezeptoren auf das Agglutinin wirken würden, ob durch Bindung, ist allerdings nach diesem Versuche nicht zu sagen. Doch scheint auch diese Annahme möglich, denn diese Bakterien zeigen, abzentrifugiert, gewaschen und in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, keine Reagglutination. Darnach wäre die Vorstellung gerechtfertigt, dafs die freien Rezeptoren durch Bindung des Agglutinins verhindern, dafs dasselbe an die

fixen Bakterienrezeptoren gelangt. Die Bakterien also, vom Agglutinin nicht beeinflufst, weiseu dann, wie es hier der Fall ist, keine Reagglutination auf. Wir kommen auf diesen Versuch, der auch eine andere Deutung zuläfst, noch zurück. Schliefslich spricht aus der Hitzebeständigkeit der hemmenden Substanz, die ja bei 100° extrahiert wurde, für die Möglichkeit eines freien Rezeptors, da ja die Temperatur von 100° die Bindungsfähigkeit der Typhusbazillen, also ihre fixen Rezeptoren, nicht beeinträchtigt. Wir haben nun alle jeue Momente in Betracht gezogen, welche dafür sprechen, dafs die hemmende Substanz im Bakterienextrakte den von Neifser und Shiga beschriebenen freien Rezeptoren entspricht.

In einer früheren Publikation[1]) wurde festgestellt, dafs die günstigste Temperatur für die Agglutinationsreaktion zwischen 50° und 55° liegt, indem bei dieser Temperatur die Agglutination viel rascher und vollständiger verläuft als bei 37°. Setzt man nun die Typhusbazillen im Bakterienextrakt nach Zugabe agglutinierenden Serums der Temperatur von 55° aus, so tritt zwar ebenfalls Hemmung ein, welche jedoch nicht so intensiv und ausgesprochen ist wie bei 37°. Mögen wir uns nun die schnellere Agglutination bei 55° wie immer vorstellen, sei es durch raschere oder durch festere Bindung des Agglutinins au die Bakterien, so müfsten die freien Rezeptoren im Bakterienextrakt durch ihre stärkere Bindungskraft als die fixen Rezeptoren bei 55° um so intensiver wirkeu, und die Agglutinationsbehinderung müfste bei dieser Temperatur eher stärker sein. Dies ist jedoch, wie eben erwähnt, nicht der Fall, ein Umstand, der sehr schwer mit der Annahme, dafs als Ursache der Hemmung freie Rezeptoren anzusehen sind, vereinbar ist. Hier sei auch darauf hingewiesen, dafs Agglutinationshemmung in starken Serumkonzentrationen, die der Wirkung von Agglutinoiden zugeschrieben wird, bei 55° ebendfalls viel weniger zutage tritt, was aus ebendemselben Grunde gegen die Wirkung von Agglutinoiden spricht, welche nach der bestehenden Anschauung eine stärkere Affinität (Proagglutiuoide)

1) Zentralblatt f. Bakteriologie, Bd. 36, Nr. 5; Bd. 37, Nr. 1.

zu den Bakterien besitzen als das Agglutinin. Diese Affinität müfste aber bei 55° noch gesteigert sein. Doch lassen sich vielleicht gegen diese Deutungen Einwände erheben, jedenfalls geben sie Anlafs zur weiteren Untersuchung, ob die Hemmung durch den Bakterienextrakt tatsächlich auf die Wirkung freier Rezeptoren zurückzuführen sei.

Wir wissen, dafs agglutinierte Bakterien das Agglutinin so fest binden, dafs es nicht gelingt, dasselbe durch Waschen zu entfernen, so dafs also agglutinierte Bakterien, abzentrifugiert, zerschüttelt und in einer indifferenten Flüssigkeit aufgeschwemmt, immer wieder reagglutiniert werden. Wenn also die Agglutinationsbehinderung durch den Bakterienextrakt auf die freien Rezeptoren zu beziehen ist, so mufste die Wirkung desselben bei Bakterien, die das Agglutinin bereits gebunden haben, vollständig versagen, da die haptophore Gruppe des Agglutinins, der Angriffspunkt der freien Rezeptoren, schon durch die normalen Bakterien besetzt ist. Derartige Versuche wurden so ausgeführt, dafs Typhusbazillen durch die Serumkonzentration 1:700 zur Agglutination gebracht wurden. Nachdem dieselbe vollendet war, wurde zentrifugiert, gewaschen und die Bakterien einerseits in Kochsalzlösung, anderseits im Bakterienextrakt aufgeschwemmt. Während in der Kochsalzlösung prompt Reagglutination eintrat, zeigten die Bakterien, im Bakterienextrakt aufgeschwemmt, dieselbe Hemmung, als ob sie mit Agglutinin gar nicht beladen wären, genau so, als ob der Bakterienextrakt auf das agglutinierende Serum eingewirkt hätte, das an Bakterien nicht gebunden ist. Solche Versuche fielen stets eindeutig aus und sprechen mit grofser Wahrscheinlichkeit gegen die Annahme der freien Rezeptoren als Ursache der Hemmung. Man müfste sich denn vorstellen, dafs dieselben durch ihre starke Affinität zum Agglutinin imstande wären, das schon an die Bakterien gebundene Agglutinin wieder loszureifsen. Diese Bakterien müfsten dann, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, nicht mehr reagglutiniert werden. Dies ist nun wirklich der Fall. Da jedoch die Annahme, dafs ein Überspringen von der fixen auf die freien Rezeptoren stattfindet, gezwungen und unnatürlich erscheint, so trat

der Gedanke nahe, ob die hemmende Substanz im Bakterienextrakte nicht anders als ein freier Rezeptor, wogegen schon so manches sprach, wirken müfste. Es wäre möglich, dafs die Agglutinationsbehinderung darin bestehe, dafs die hemmende Substanz direkt das Serum unwirksam mache, nicht durch Bindung, wie ein freier Rezeptor, sondern ebenso wie etwa die Temperatur von 75°, oder chemische Agentien, die thermolabile Gruppe des Agglutinins zerstören, das Agglutinin inaktivieren. In dem vorliegenden Falle wäre nach dieser Annahme an der Bindung des Agglutinins bei den agglutinierten Bakterien durch die hemmende Substanz nichts geändert; die hemmende Substanz des Bakterienextraktes hätte das an die Bakterien gebundene Agglutinin an den Bakterien inaktiviert, seine fällende Gruppe zerstört, so dafs diese Bakterien nicht mehr mit Agglutinin, sondern mit Agglutinoiden besetzt wären. Ist das richtig, so mufsten sie, wenn sie mit einer genügend starken Konzentration besetzt sind, unempfänglich sein gegenüber aktivem agglutinierendem Serum. Nach der Richtung hin ausgeführte Versuche entsprachen vollkommen der Erwartung. Bakterien wurden durch die Serumkonzentration 1:100 agglutiniert, abzentrifugiert, gewaschen und hierauf in Bakterienextrakt aufgeschwemmt: jede Agglutination blieb aus. Hierauf wurde abermals abzentrifugiert und gewaschen und schliefslich in der Serumkonzentration 1:1000 aufgeschwemmt. Auch hier blieb während zweistündiger Beobachtung die Agglutination, die in der Kontrolle bereits nach ¼ Stunde deutlich war, aus.

Als weiteren Beweis hierfür wurden die Versuche derart ausgeführt, dafs die gleiche Serumkonzentration, wie im vorangehenden Versuche (1 Tropfen der Verdünnung 1:4), mit 1 ccm Bakterienextrakt versetzt wurde. Nach ½stündigem Verweilen der Mischung bei 37° wurden Bakterien hinzugesetzt und nach kurzer Zeit abzentrifugiert und gewaschen. Nach Aufschwemmung in derselben Konzentration aktiven Serums (1:1000), wie im vorigen Versuche, trat gegenüber der Kontrolle starke Hemmung auf, die jedoch nicht so stark war wie im vorhergehenden Versuche, wo die Agglutination während zweistündiger Beobach-

tung vollständig ausblieb. Die Ursache dieser schwächeren Wirkung dürfte in folgendem gelegen sein: Wird eine starke Serumkonzentration mit nicht genügend wirksamen Bakterienextrakt gemischt, so vermag derselbe nur einen Teil des vorhandenen Agglutinins zu inaktivieren. Bringt man jetzt Bakterien hinein, so bleibt die Vorstellung, dafs dieselben nicht vollständig mit inaktiviertem Serum besetzt und demnach auch nicht vollständig inagglutinabel sind. Im Gegensatz dazu binden Bakterien aus derselben Serumkonzentration nur einen Teil des Agglutinins, und zur Paralysierung dieses Teiles reicht die Konzentration der hemmenden Substanz eben aus, und das bereits an die Bakterien gebundene Agglutinin wird vollständiger inaktiviert.

Über die Wirkung des Bakterienextraktes mufsten noch Versuche mit inaktiviertem Serum Klarheit verschaffen. Die Bindung des inaktivierten Serums an die Bakterien mufste verhindert werden, wenn die hemmende Substanz als freier Rezeptor wirkt, mufste jedoch stattfinden, wenn die hemmende Substanz nicht durch Bindung des Agglutinins, sondern durch Inaktivierung desselben wirkt. Im ersten Falle müfsten Typhusbazillen, die mit inaktiviertem Serum und Bakterienextrakt behandelt sind, von aktivem Serum agglutiniert werden, in letzterem Falle wegen der Besetzung mit Agglutinoiden inagglutinabel sein. Ein derart ausgeführter Versuch sei hier beschrieben. Zu je 1 ccm Kochsalzlösung und 1 ccm Bakterienextrakt wurden je 2 Tropfen inaktivierten Serums (1 Stunde auf 75° erwärmt) von der Konzentration 1:8 gegeben, wodurch die Bakterien, die nach einiger Zeit hinzugefügt wurden, unter der Einwirkung der Konzentration inaktivierten Serums 1:100 standen. Nach ½stündigem Verweilen im Brutschrank, nach Abzentrifugieren und Waschen der Bakterien werden dieselben in beiden Röhrchen der Serumkonzentration 1:1000 ausgesetzt. Während die Agglutination in der Kontrolle nach ¼ Stunde zu beobachten war, blieb dieselbe während zweistündiger Beobachtung bei 37° in den beiden oben erwähnten Röhrchen aus. Dieser Versuch beweist, dafs trotz Anwesenheit der hemmenden Substanz die Besetzung mit inaktiviertem Serum stattfand, in demselben Grade wie bei Nicht-

vornandensein derselben. Die Wirkung eines freien Rezeptors scheint nach diesem Versuche ausgeschlossen.

Von der Annahme einer fast unbeschränkton Bindung des Agglutinins an die Bakterien ausgehend (Eisenberg und Volk), wurde versucht festzustellen, wie oft sich dieselben Bakterien mit Kochsalzlösung bei 60° extrahieren lassen, um einen wirksamen Extrakt zu liefern. Es zeigte sich, dafs schon nach der ersten Extraktion nur mehr ganz schwach hemmende Flüssigkeiten zu erlangen waren.

Wenn wir nun alle jene Momente prüfen, welche für das Vorhandensein freier Rezeptoren als Ursache der hemmenden Wirkung sprachen, so sehen wir, dafs dieselben auch vollkommen mit der Anschauung in Einklang zu bringen sind, dafs die hemmende Substanz im Bakterienextrakt das Agglutinin nicht durch Bindung, sondern durch Inaktivierung unwirksam macht. Diejenigen Umstände jedoch, welche der Wirkung von freien Rezeptoren widersprechen, finden nach obiger Deutung eine ungezwungene Erklärung.

Es läfst sich also, um das Ergebnis dieser Untersuchung zusammenzufassen, durch Kochsalzlösung aus den Typhusbazillen eine Substanz extrahieren, welche befähigt ist, die Serumagglutinine zu inaktivieren. Inwiefern dieser Bakterienextrakt spezifisch ist und mit der Bildung von Agglutinin im Tierkörper zusammenhängt, darüber werden weitere Untersuchungen Aufschlufs geben.

Untersuchungen über die Aggressivität des Choleravibrio.

Von

Prof. Dr. **Oskar Bail,**
Assistenten des Institutes.

(Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

In einer vor kurzem in diesem Archiv, Band 52, veröffentlichten Abhandlung wurde über die Aggressivität von Bakterien, insbesondere von Typhusbazillen und Choleravibrionen, berichtet. Da das Vorhandensein und die Besonderheit von aggressiven Bakterieneigenschaften die Grundlage einer neuartigen Anschauung über Infektion und Immunität zu bilden geeignet erscheint, so mögen die wesentlichen Punkte nochmals kurz hervorgehoben werden.

Jeder Bazillus mufs, um sich im Körper eines Tieres halten und weiterhin durch seine Vermehrung Krankheit hervorrufen zu können, über die Fähigkeit verfügen, die Schutzkräfte desselben lahmzulegen oder abzuhalten. Diese Fähigkeit ist als Aggressivität des betreffenden Bazillus zu bezeichnen, und man kann sie sich in der üblichen Weise durch eigene Stoffe, die Aggressine, erklärt denken, die etwa nach Art eines Toxins abgeschieden werden. Durch geeignete Versuchsanordnung lassen sich im Körper entsprechend geimpfter Tiere krankhafte Flüssigkeiten erzeugen, in welchen die aggressiven Eigenschaften, kürzer gesagt: die Aggressine, nachweisbar werden. Für Typhusbazillen

und Choleravibrionen ist dazu das Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen geeignet, ebenso für Dysenteriebazillen nach den Untersuchungen von Kikuchi[1]); für die Erreger der Hühnercholera läfst sich nach Weil[2]) die Brusthöhlenflüssigkeit von Kaninchen, für Milzbrand das Unterhautödem verschiedener Tiere mit Vorteil verwenden.

Da die Aggressivität die unerläfsliche Vorbedingung für das Wachstum von Bakterien im Tierkörper, somit auch für die Krankheitsmöglichkeit ist, so gibt ihr Fehlen oder ihre Bildung einen guten Einteilungsgrund für Bakterienwirkung auf ein bestimmtes normales Tier ab. Unter Berücksichtigung der dabei zu beachtenden Umstände lassen sich unterscheiden: 1. Reine oder obligat invasive Parasiten; 2. Halbparasiten oder fakultativ invasive Parasiten; 3. Saprophyten.

Die erste Gruppe wird dargestellt von Bakterien, die unter allen Umständen sich im Tierkörper vermehren können, während Halbparasiten dazu nur bei Einimpfung gröfserer Mengen imstande sind und Saprophyten dies überhaupt nicht vermögen. So ist z. B. für das Meerschweinchen der Milzbrand- und wahrscheinlich auch der Tuberkelbazillus reiner Parasit, d. h. beide haften bei jeder Impfart und schon in der geringsten Menge. Der Hühnercholerabazillus, der erst einer gröfseren Individuenzahl und auch oft besonderer Impfart (Weil) bedarf, um sich ungestört vermehren zu können, ist für dieses Tier Halbparasit und ebenso Typhus, Dysenteriebazillen, Choleravibrionen, Staphylokokken usw.

Aufser diesem Hauptmerkmal, der durch starke Aggressivität bedingten unbeschränkten Vermebrungsfähigkeit, unterscheiden sich echte und Halbparasiten wahrscheinlich noch durch eine Reihe von Eigenschaften. Dazu gehört vor allem die ausgesprochene Ausbildung von Giften bei Halbparasiten, die entweder als gelöste Toxine, wie bei Diphtherie, oder als Endotoxine, wie bei vielen anderen Bakterien, leicht nachzuweisen sind, während

1) Kikuchi, dieses Archiv, Bd. 52, S. 378.
2) Weil, dieses Archiv, Bd. 52, S. 412.

sie bei echten Parasiten zwar wahrscheinlich auch nicht fehlen, aber doch nicht leicht aufzufinden sind. Ferner gehört sehr wahrscheinlich eine sehr grofse Unempfindlichkeit gegen die auflösende Wirkung der normalen Körpersäfte zu den Eigenschaften der echten Parasiten, womit es wieder zusammenhängt, dafs die künstliche Steigerung derselben durch Vorbehandlung von Tieren mit Bazillenleibern u. dgl. nur schwer gelingt. Der sehr naheliegende Hinweis auf die Abtötung des Milzbrandbazillus, also eines echten Parasiten, durch Kaninchenserum, hat viel von seiner Bedeutung verloren, seitdem Pirenne[1]) gezeigt hat, dafs diese Keimvernichtung sich von der anderer Bakterien sehr wesentlich unterscheidet. Auch Wilde hatte ja schon viel früher im Kaninchenserum zur Milzbrandvernichtung ein besonderes »Alexin« angenommen.

Im Gegensatz dazu sind Halbparasiten der auflösenden Serumwirkung sehr zugänglich; es ist ja bekannt, welch verhältnismäfsig grofse Mengen von Choleravibrionen durch 1 ccm Kaninchen- oder gar Rinderserum aufgelöst werden können. Jedenfalls hängt damit auch zusammen, dafs die künstlich gesteigerte Bakteriolyse gerade für typische Halbparasiten in besonders hohem Mafse möglich ist. Wie sich die einzelnen Mikroorganismen verhalten, z. B. Staphylokokken, bedarf noch genauerer Untersuchungen, für welche hier ein weites und dankbares Gebiet vorliegt.

Schliefslich wäre es nicht unmöglich, dafs zum Charakter der echten Parasiten die schrankenlose Durchwucherung des ganzen befallenen Tierkörpers gehört, als akuteste Septikämie wie bei der Hühnercholera an Kaninchen und Vögeln, als verhältnismäfsig langsamere bei Milzbrand von Kaninchen und Meerschweinchen, oder als chronisches aber ungehemmtes Weiterwachsen in fast allen Organen wie bei der Tuberkulose der Meerschweinchen. Demgegenüber tritt bei Halbparasiten der lokale Charakter der Erkrankung mehr oder weniger deutlich in den Vordergrund.

1) Zentralblatt für Bakteriologie, 1904, Bd. 36.

Von gröfster Wichtigkeit ist aber, dafs die Aggressivität, deren höchste Ausbildung den echten Parasitismus bedingt, variabel oder vielmehr variierbar ist. Es ist ja bekannt, dafs man Milzbrand- oder Hühnercholerabazillen abschwächen kann, so dafs sie sich auch im empfänglichen Tiere nur noch als Halbparasiten oder gar als reine Saprophyten erweisen. Derartige Abstufungen der Aggressivität kann man nach den bisherigen Kenntnissen in der Gruppe der Halbparasiten leicht feststellen. So steht Cholera, wie bereits Hueppe sehr frühzeitig betont hatte, den reinen Saprophyten wahrscheinlich noch sehr nahe, während Typhus sich den Parasiten schon weit mehr nähert.[1]) Staphylokokken und Streptokokken nehmen wahrscheinlich unter den Halbparasiten den höchsten Rang ein und befinden sich z. B. für das Kaninchen auf einem Übergange zum reinen Parasitismus.

Die Variierbarkeit der Aggressivität ist bei echten Parasiten nur verhältnismäfsig schwer und nur nach der negativen Seite hin zu erweisen, indem z. B. ein aus einem gestorbenen Kaninchen gewonnener Milzbrandbazillus seine absolute Aggressivität erst nach Einwirkung von Gewaltmitteln ganz oder teilweise verliert. In der Gruppe der Halbparasiten dagegen gehören Änderungen der Aggressivität zu den gewöhnlichsten Erscheinungen und können im positiven wie im negativen Sinne mit Leichtigkeit erfolgen. Ein Choleravibrio, der z. B. augenblicklich in der Menge von $^1/_{10}$ Öse Agarkultur genug Aggressivität entfaltet, um in der Meerschweinchenbauchhöhle zu wachsen, kann nach verhältnismäfsig kurzer Züchtung diese Fähigkeit zum gröfsten Teile einbüfsen; er gewinnt sie aber durch erzwungenen Aufenthalt im Tierkörper leicht wieder. Es ist klar, dafs hier der Begriff der Aggressivität sich mit dem älteren und unbestimmten der Virulenz fast völlig deckt. Überhaupt werden diese beiden Begriffe vielfach, aber nicht immer, zusammenfallen. Der Begriff der Virulenz setzt die eingeimpfte Bazillenmenge nur mit der Krankheit oder dem Tode eines Tieres in Beziehung, mit der Bezeichnung Aggressivität ist die bestimmte Vorstellung einer Wachstumsmöglichkeit im Or

1) Vgl. dieses Archiv, Bd. 52, S. 369.

ganismus durch Abhaltung der Schutzkräfte verbunden. Wenn nach der wichtigen Entdeckung Pfeiffers eine bestimmte Vibrionenzahl Meerschweinchen typisch tötet, so gibt diese Menge das Maſs der Virulenz, auch wenn keine Vermehrung erfolgt ist. Die Aggressivität des gleichen Cholerastammes wäre aber eine andere, und zwar niedrigere, da erst eine gröſsere Vibrionenmenge die Schutzkräfte des Körpers genügend abhalten kann, um aktive Vermehrung herbeizuführen. Die Vergiftung, die in diesem Falle Krankheit und Tod herbeiführt, ist das Sekundäre, für die Aggressivität entscheidet die Möglichkeit der eigenen Vermehrung im Tiere. Die Wichtigkeit dieser Feststellung wird nicht beeinfluſst durch die später noch zu besprechende Erscheinung, daſs die Vergiftung selbst durch künstlich gewonnene aggressive Flüssigkeiten begünstigt werden kann. Noch deutlicher wird der Unterschied zwischen Aggressivität und Virulenz bei Betrachtung der toxinbildenden Bakterien. Die meisten Stämme von Tetanusbazillen wird man als hochvirulent bezeichnen müssen, da sie, in geringster Menge eingeimpft, den charakteristischen Tod erzeugen. Ihre Aggressivität ist aber dabei auſserordentlich gering, da sie erst bei geeigneter Impfmethode sich vermehren, vielleicht überhaupt im ganz gesunden Gewebe nicht wachsen können. Von Diphtheriebazillen gilt ähnliches.

Es mögen hier einige Worte über das Verhältnis von toxischer und aggressiver Wirkung eingeschaltet werden. Beide können z. B. in einem Dysenterieexsudate nebeneinander vorhanden sein und biologisch getrennt werden, wenn zwei Tiere von sehr verschiedener Toxinempfindlichkeit zur Verfügung stehen (Meerschweinchen und Kaninchen bei Dysenterie). Dies sowie der Umstand, daſs die ausgesprochen aggressiven Flüssigkeiten, die man bei echten Parasiten gewinnen kann, jeder Giftwirkung entbehren, ist der zwingende Grund, beide Wirkungen auseinanderzuhalten. Sollte sich etwa herausstellen, daſs die aggressive nur ein Teil der Giftwirkung wäre, so bleibt derselben doch ihre Wichtigkeit, die Abhaltung der Körperschutzkräfte erhalten. Man könnte sich ganz gut vorstellen, daſs Ausscheidungs- oder Auflösungsprodukte von Bazillen schon in geringer Konzentration

Leukozyten abhalten, d. h. die bisher einzig sichtbar zu machende Wirkung der »Aggressine« entfalten, während in stärkerer die giftige, den Tierorganismus unmittelbar schädigende herrschend hervortritt. Negative Chemotaxis, vermutlich die wichtigste Eigenschaft der Aggressine[1]) ist ja bereits mehrfach bei Stoffwechselprodukten von Bakterien untersucht worden (vgl. die Literatur bei Metschnikoff), und es hindert nichts, auch die Aggressivität so zu bezeichnen, wenn sie wirklich nur in der Leukozytenabhaltung besteht. Denn es kann nicht scharf genug betont werden, dafs dort, wo von Aggressinen wie von Stoffen gesprochen wird, zunächst nur Eigenschaften gemeint sind, die einer sonst in ihrer Zusammensetzung unbekannten Flüssigkeit zukommen, und für welche die üblich gewordene materialisierende Ausdrucksweise der Kürze halber gewählt wurde. Sollten sich als Träger dieser Eigenschaften bestimmt charakterisierte, bei genauerer Kenntnis chemisch darstellbare Stoffe herausstellen, dann ist es um so besser. Vorläufig aber ist diese einschränkende Bemerkung durchaus notwendig und das Studium der »Aggressine« verliert dadurch, namentlich mit Rücksicht auf ihre immunisierenden Wirkungen nichts an seinem Werte.

Hat man sich einmal mit dem Begriff der Aggressivität vertraut gemacht, so ist es nicht schwer, die Verhältnisse der Aggressivität bei verschiedenen Bakterien, die Stärke derselben u. dgl. aus dem Infektionsverlaufe, der Keimzahl in den Organen und ähnlichen Vorkommnissen zu erschliefsen. Das würde aber nur ein blofser, wenn auch vielleicht sehr nützlicher Begriff bleiben, wenn es nicht gelingt, die Aggressivität eines Bazillus gewissermafsen in Gestalt seiner Aggressine zu materialisieren, d. h. sie getrennt von den Bazillen zu erhalten und ihre Wirkung deutlich zu machen.

Das ist zurzeit wenigstens noch nicht leicht. Zwar gelingt es, in krankhaften Flüssigkeiten eine Anzahl von Eigenschaften

1) D. h. der Aggressine in Verbindung mit den zugehörigen Bazillen. Aggressine Flüssigkeiten allein wirken nicht stark negativ chemotaktisch. Über diese wichtigen Verhältnisse wurden eingehende Studien bei Typhus und Tuberkelbazillen gemacht, die ihrem Abschlusse nahe sind.

nachzuweisen, die dem Begriff der Aggressivität entsprechen; aber dieser Aggressinnachweis ist sozusagen bisher nur ein qualitativer, entbehrt noch der Feinheit, bedarf verhältnismäfsig grofser Flüssigkeitsmengen. Das kann nicht wundernehmen und darf kein Vorwurf sein; denn wenn man sich auch über die Ausbildung von Aggressinen nach der Art des Infektionsverlaufes bestimmte Vorstellungen machen kann, so fehlen doch noch sichere Anhaltspunkte dafür, wie man die Aggressine möglichst reichlich an bestimmten Stellen des Körpers zur Ansammlung bringen und nachher gewinnen kann. Das aber ist für das Arbeiten notwendig, und so bleibt hier noch viel zu tun.

Am empfindlichsten ist dabei die mangelnde Beständigkeit der Aggressinbefunde, wie sie z. B. bei Choleraversuchen hervortritt. Im Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen lassen sich gegebenenfalls alle Aggressineigenschaften leicht nachweisen; es kommen aber oft genug Tiere vor, deren Exsudate selbst in grofsen Mengen unwirksam sind, ohne dafs man den Grund dafür angeben könnte. Dem gleichen Übelstande begegnete Kikuchi bei Dysenteriebazillen, so dafs er es »bis zu einem gewissen Grade als Glücks- und Zufallssache« bezeichnete, ein wirksames Aggressin zu finden[1]). Versuche, die Beschaffenheit und den Zellgehalt solcher Exsudate als Kennzeichen höherer oder geringerer Aggressivität zu verwerten, hatten schliefslich keinen sicheren Erfolg.

Weitere Versuche in dieser Richtung wurden durch folgende Erwägung veranlafst. Echte Parasiten, wie Hühnercholera (Weil) und Milzbrand, ergeben fast ausnahmslos wirksame Aggressine. Da aber, wie bereits oben bemerkt wurde, die Aggressivität offenbar eine variierbare Eigenschaft ist, so könnte man versuchen, sie bei einem bestimmten Choleravibrio so zu steigern, dafs derselbe dadurch dem Zustande echter Parasiten genähert würde. Eine leichtere und sicherere Aggressingewinnung könnte dann die Folge sein. Kikuchi[2]) hat bereits für Dysenteriebazillen in dieser Hinsicht sehr bemerkenswerte Ergebnisse erzielt.

1) Kikuchi, dieses Archiv, Bd. 52, S. 393.
2) Berliner klinische Wochenschrift, 1905, Nr. 15.

Das einzige Mittel, das für solche Versuche zur Verfügung steht, ist das, den Choleravibrio zum beständigen Aufenthalte im Tierkörper zu zwingen, also bei intraperitonealer Meerschweinchenimpfung fortgesetzt das gebildete Exsudat ohne Einschaltung künstlicher Kulturen als Infektionsstoff zu verwenden. Derartige Versuche sind bereits mehrfach unternommen worden, und es wird auf die wichtigsten derselben später eingegangen. Dabei kam es darauf an, ob eine unbegrenzte Infektionsreihe möglich sei. Dies war bei den folgenden Serienimpfungen nicht der Zweck, weshalb auch abgebrochen wurde, sobald das angestrebte Ziel, die Aggressingewinnung, als erreicht gelten konnte. Die verwendete Kultur ist die gleiche wie in den früheren Versuchen.

I. Reihe.

Meerschweinchen 259. Erhält 1 Agarkultur Cholera-»Stamm« ip. Stirbt nach ca. 11 Std. und enthält ca. 8 ccm wenig trübes, dünnes Exsudat mit spärlichen, kleinen, polynukleären Leukozyten mit schwacher Phagozytose. Massenhaft Vibrionen, öfters in Klumpen, vielfach sehr lang (Spirillenform). Spärliche, zellarme, mehr fibrinöse Auflagerungen am Netz und der Leber mit grofsen, polynukleären Leukozyten und schwacher Granulaphagozytose. Dazwischen zahlreiche Vibrionen.

Meerschweinchen 260. Erhält 3 ccm frisches, nicht verändertes Exsudat von Nr. 259 ip. Stirbt in der Nacht. Enthält ca. 6 ccm dünnes, wenig trübes Exsudat mit spärlichen, kleinen, polynukleären Leukozyten nnd grofse Mengen ven oft sehr langen Vibrionen. Auflagerungen fehlen.

Meerschweinchen 261. Erhält 2 ccm frisches Exsudat von 260 ip. Stirbt bereits abends nach ca. 10 Std., konnte aber erst am nächsten Tage seziert werden. Es enthielt ca. 4 ccm mäfsig trübes, etwas fadenziehendes Exsudat mit einer mäfsigen Zahl kleiner, polynukleärer Leukozyten ohne Phagozytose. Vibrionenbefund wie bisher. Keine Auflagerungen.

Meerschweinchen 262. Erhält 1 ccm frisches Exsudat von 261 ip. Stirbt nach 10 Std. mit schwerster Infektion, ohne Auflagernngen. ca. 9 ccm trübes Exsudat, das aufser einer Anzahl von Endothelien fast keine Zellen, aber grofse Mengen von langen Vibrionen enthält.

Meerschweinchen 263. Erhält 0,5 ccm frisches Exsudat von 262 ip. Stirbt nach 15 Std. Enthält ca. 2 ccm dickes, trübes Exsudat mit einer mäfsigen Zahl kleiner, polynukleärer Zellen, fast ohne Phagozytose, massenhafte Vibrionen. Mäfsig reichliche Auflagerungen auf Netz, Leber, Milz, aus grofsen polynukleären Leukozyten mit starker Granulaphagozytose; dazwischen zahlreiche normale Vibrionen. In der Milz sind mikroskopisch grofse Mengen von Vibrionen nachzuweisen, spärlicher, aber ohne Mühe zu finden sind sie in Leber und Herzblut. Ausstriche auf Agar liefern aus allen Organen üppiges, zusammenhängendes Wachstum.

Meerschweinchen 270. Erhält zuerst 0,001 ccm Immunserum »Pfeiffer«, gleich darauf 0,4 ccm frisches Exsudat von 263 ip. Eine Kapillarentnahme zeigt nach 5 Std. bereits zahlreiche, teils unbewegliche teils schwärmende Vibrionen, daneben mäfsig viele Granula. 2 Std. später sind ziemlich viel Leukozyten aufgetreten; massenhaft Vibrionen neben Granula. Stirbt nach genau 24 Std. Enthält 2,5 ccm dickes, trübes Exsudat mit vielen polynukleären Leukozyten, die z. T. in schon makroskopisch sichtbaren Klumpen vereint sind. Grofse Mengen von Vibrionen, daneben viel weniger Granula. Auflagerungen verhältnismäfsig wenige, mit dem gewöhnlichen Befunde. Kulturen aus Exsudat ∞, aus Leber ca. 200, aus Herzblut ca. 600 Kolonien (je 1 Öse).

Meerschweinchen 271. Geimpft wie 270, aber ohne Immunserum. Stirbt in der Nacht und enthält ca. 3 ccm trübes Exsudat mit einer beträchtlichen Anzahl meist verklumpter, kleiner, polynukleärer Leukozyten. Vibrionen in grofser Zahl. Eitrige Auflagerungen reichlicher als bisher. Kulturell aus Exsudat ∞, aus Milz 74, aus Leber 123, aus Herzblut 560 Kolonien (je 1 Öse).

Meerschweinchen 272. Erhält zuerst 0,001 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf 0,4 ccm frisches Exsudat von 271 ip. Bleibt am Leben.

Meerschweinchen 273. Geimpft wie 272, ohne Serum. Bleibt am Leben.

Im Anschlufs an diese Reihe seien sofort die Aggressivitätsversuche mit Exsudaten angeführt. Geprüft wurde die Aggressinwirkung durch gleichzeitige oder meistens nachträgliche Einspritzung der Exsudate mit Immunserum »Pfeiffer« und Choleravibrionen.

a) Mischung aus 2 ccm Exsudat 261 mit 2,5 ccm Exsudat 260 mit Toluol sterilisiert.

Meerschweinchen 267. Erhält 0,001 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur ip. $^1/_4$ Std. später sind nur Granula vorhanden, deren Zahl sich nach einer weiteren $^1/_4$ Std. bereits vermindert hat. Jetzt erhält das Tier 3,5 ccm obiger Exsudatmischung ip. Im weiteren Verlaufe verschwinden die Granula nach 3 Std. vollständig. Leukozyten treten nach 5 Std. auf, bleiben aber weit weniger zahlreich als sonst, und ihre Zahl vermindert sich eher bis zu 8 Std. nach der Infektion. Dabei ist das Tier um diese Zeit typisch cholerakrank, schlaff und liegt auf der Seite. Wider Erwarten ist es am andern Morgen noch am Leben, sogar etwas erholt und die Bauchhöhle enthielt jetzt Eiter. Es starb nach 32 Std. Reichlich sulziges Ödem unter der Haut ohne Zell- und Bazillenbefund[1]). Einige Tropfen Exsudats im Bauchraum mit kleinen und grofsen polynukleären Leukozyten. Von Auflagerungen finden sich nur am Netz einige kleine Flöckchen, die grofse, polynukleäre Zellen mit Granulaphagozytose enthalten und überdies Vibrionen von gutem Aussehen. Kulturen aus dem Exsudate bleiben steril, Ausstriche aus den Auflagerungen liefern spärliches Wachstum.

1) Das Auftreten von Unterhautödemen ist bei Versuchen mit Aggressinen verschiedener Bazillen (Cholera, Dysenterie, Tuberkulose) sehr häufig. Meist läfst sich darin überhaupt nichts finden.

b) Exsudat von 262 völlig klar zentrifugiert, ca. 24 Std. kalt aufbewahrt, nicht sterilisiert.

Meerschweinchen 268. Erhält 3 ccm Exsudat, gleich darauf 0,001 ccm Serum ›Pfeiffer‹ + 1 Öse Choleraagarkultur. Nach ¼ Std. finden sich fast nur Granula, nach 2 Std. sind sie bereits vollständig verschwunden. Erst nach 3 Std. treten Leukozyten in geringer Zahl, meist zu Klumpen geballt, auf, ihre Zahl steigt sehr langsam bis zu 8 Std., bleibt aber immer verhältnismäfsig klein. Abends ist das Tier sehr hinfällig und bleibt so bis zu dem nach 2 Tagen erfolgten Tode. Es finden sich in der Bauchhöhle weder Exsudat noch Auflagerungen. Auffällig ist die starke Degeneration, fast Verfettung, der Leber.

Meerschweinchen 269. Erhält 0,001 ccm Serum ›Pfeiffer‹ + 1 Öse Choleraagarkultur ip. Nach ¼ Std. sind nur Granula vorhanden und das Tier erhält jetzt 3 ccm Exsudat ip. Noch nach 3 Std. fehlen Leukozyten fast vollständig, erst nach 6 Std. treten sie ganz vereinzelt auf und bleiben bei schwerer Krankheit des Tieres sehr spärlich. Der Tod tritt in der Nacht ein. In dem ca. 3 ccm fast klaren Exsudate der Bauchhöhle sind nur wenige Lymphozyten und zusammengeballte, kleine, polynukleäre Zellen enthalten. Auf dem Netz finden sich einige kleine, weifse Flöckchen, mit polynukleären Leukozyten und schwacher Granulaphagozytose. Überdies lassen sich hier gut erhaltene Vibrionen ohne Mühe auffinden, während sonst weder Granula noch Vibrionen zu finden sind. Kulturen liefern aus 1 Öse Exsudat 29 Kolonien, aus den Flöckchen dichte Beläge.

II. Reihe.

Meerschweinchen 280, 290 g. 1 Öse Choleraagarkultur ip. Stirbt nach 12 Std. und liefert 4 ccm mäfsig trübes, dünnes Exsudat mit wenigen kleinen, polynukleären Leukozyten und schwacher Phagozytose. Vibrionen in Menge, vielfach verknäuelt. Keine Auflagerungen. In der Milz lassen sich spärliche und unsichere, in Herz und Leber keine Vibrionen finden.

Meerschweinchen 281, 430 g. Erhält 2 ccm frisches Exsudat 280 ip. Stirbt nach ca. 20 Std. mit dem Befunde der verhältnismäfsig leichten Infektion, ca. 2,5 ccm sehr dickes, trübes Exsudat mit sehr zahlreichen kleinen, aber auch grofsen, polynukleären Leukozyten mit guter Granulaphagozytose. Vibrionen sehr reichlich, wobei aber auffällt, dafs lange Formen sowie Knäuelbildung weit spärlicher sind als sonst im Verlauf der Reihen. Dicker Eiter auf der Leber mit dem gewöhnlichen Befunde grofser, polynukleärer Zellen und starker Granulaphagozytose. Dazwischen Vibrionen. Mikroskopisch Vibrionen in der Milz spärlich, in Leber und Herz nicht nachweisbar. — Die Bauchhöhle des Tieres wird nach Entnahme des Exsudats mit 2 ccm NaCl-Lösung ausgespült, beide Flüssigkeiten vereinigt und dann zentrifugiert, bis die obenstehende Flüssigkeit etwa die Trübung einer jungen Peptonwasserkultur besitzt. Der Satz samt den Zellen wird in NaCl-Lösung aufgeschwemmt.

Meerschweinchen 282, 325 g. Erhält 3,5 ccm der Flüssigkeit ip. Stirbt nach 10 Std. und enthält nur etwa 2 ccm dünnes, trübes Exsudat mit einer mäfsigen Anzahl von kleinen, polynukleären Leukozyten und schwacher Granulaphagozytose. Massenhaft Vibrionen, oft sehr lang und verknäuelt. Leber und Milz mit dünnen, eitrigen Überzügen, die den gewöhnlichen Befund zeigen. Milz vergröfsert; darin sowie in der Leber und im Herzblut zahlreiche Vibrionen mikroskopisch nachweisbar. Kulturell aus allen Organen üppige Kulturen.

Meerschweinchen 283, 315 g. Erhält den in 3,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmten Satz von Exsudat 281 ip. Stirbt nach ca. 10 Std. und liefert 5 ccm dünnes, wenig trübes Exsudat mit spärlichen, kleinen, polynukleären Zellen, ohne Phagozytose. Vibrionen massenhaft, fast sämtlich verknäuelt. Mikroskopisch in Milz und Leber zahlreiche, im Herzen keine Vibrionen gefunden. Kulturell von überallher üppige Kulturen.

Meerschweinchen 284, 310 g. Erhält zuerst 0,002 ccm Serum ›Pfeiffer‹, gleich darauf 2 ccm frisches Exsudat 283 ip. War am Abend sehr krank, erholte sich dann, magerte aber zusehends ab und starb am 4. Tage ohne besonderen Befund marastisch.

Meerschweinchen 285, 260 g. Geimpft, wie 284 ohne Immunserum. Stirbt nach 8 Std. und liefert ca. 8 ccm trübes, etwas dickliches Exsudat, das fast nur Vibrionen in langen Knäueln enthält; wenige kleine, polynukleäre Zellen mit Granulaphagozytose. Keine Auflagerungen. Kulturell gingen aus allen Organen und dem Herzen üppige Kulturen auf.

Meerschweinchen 286, 250 g. Erhält 0,8 ccm frisches Exsudat von 285 ip. und stirbt nach weniger als 11 Std. Es enthält ca. 4 ccm dünnes, wenig trübes Exsudat, mit spärlichen kleinen, polynukleären Leukozyten und massenhaften Vibrionen in der gewöhnlich beobachteten Form und Anordnung. Keine Auflagerungen. Herz, Milz und Leber ergeben üppige, Lunge spärlichere Kulturen.

Meerschweinchen 287, 230 g. Erhält zuerst 0,001 ccm Serum ›Pfeiffer‹, gleich daranf 0,5 ccm frisches Exsudat von 286 ip. Die fortlaufende Beobachtung ergibt nach $1^1/_2$ Std. eine beträchtliche Anzahl meist zusammengeballter Leukozyten, spärliche Granula und unbewegliche Vibrionen. Nach 3 Std. hat die Zahl der Leukozyten nicht weiter zugenommen. Vibrionen finden sich vereinzelt neben auffällig vielen Körnchen. Nach 6 Std. enthält das deutlich kranke Tier mäfsig viel Leukozyten, zum Teil in Klumpen, wimmelnde Vibrionen, die aber sehr kurz aussehen, neben sehr vielen Körnchen. Der Tod erfolgt in der Nacht. Das in sehr geringer Menge vorhandene Exsudat enthält ziemlich reichlich kleine, polynukleäre Leukozyten mit stärkster Granulaphagozytose, sehr viele normale Vibrionen neben noch mehr gequollenen und Körnchen. Reichliche Auflagerungen mit Granulaphagozytose in grofsen, polynukleären Leukozyten.

Meerschweinchen 288, 210 g. Geimpft wie 287, ohne Serum. Stirbt nach 11 Std., enthält aber nur sehr wenig Exsudat, fast ohne Zellen, mit dem gewöhnlichen Vibrionenbefunde. Fast keine Auflagerungen. In Leber, Milz und Herzblut sind bereits mikroskopisch zahlreiche Vibrionen nachweisbar.

Die Reihe wurde bei diesem Tiere abgebrochen; zum Aggressinversuche diente das sehr sorgfältig und ganz klar zentrifugierte Exsudat von Nr. 286.

Meerschweinchen 289, 200 g. Erhält 2 ccm Exsudat, gleich darauf 0,001 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur aus Nr. 282. Nach 20 Minuten nur Granula. Während der ganzen 7 stündigen Beobachtungsdauer traten nur ganz spärliche Leukozyten in die Bauchhöhle ein. Der Tod trat in der Nacht ein. Es fanden sich ca. 2 ccm wenig trüben, etwas dicklichen Exsudates, mit einer mäfsigen Zahl kleiner, polynukleärer Leukozyten ohne Phagozytose. Weder Körnchen noch Vibrionen. Nur am Netz finden sich einige kleine Auflagerungen mit grofsen, polynukleären Zellen und starker Granulaphagozytose. Zwischenliegend vereinzelte normale Vibrionen.

Meerschweinchen 290, 240 g. Erhält 0,001 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur ip., 20 Minuten später, wo nur noch Granula in der Bauchhöhle vorhanden sind, 2 ccm Exsudat ip. Wie bei 289 treten während der ganzen Beobachtungsdauer fast keine Leukozyten auf. Typisch krank war das Tier bereits nach 4 Std., doch trat der Tod erst in der Nacht ein. In der Bauchhöhle fand sich wenig, fast klare Flüssigkeit mit spärlichen, kleinen, polynukleären Leukozyten, ohne Vibrionen und Granula. Am Netz waren zwei kleine, weifse Flocken mit dem gleichen Befunde wie bei 289.

III. Reihe.

Meerschweinchen 296, 470 g. Erhält 1 Agarkultur der wenig virulenten Stammcholera ip. Stirbt erst nach 21 Std. und liefert 3,5 ccm trübes, dickes Exsudat mit zahllosen Vibrionen und sehr vielen, meist kleinen, polynukleären Leukozyten und starker Granulaphagozytose. Reichliche Auflagerungen.

Meerschweinchen 297, 510 g. Erhält das fast klar zentrifugierte Exsudat von 296 + $^1/_{15}$ des zellfrei gemachten Satzes aus diesem Exsudate (Satz in warmem, sterilem Wasser aufgeschwemmt, durch Papier filtriert, wieder zentrifugiert). Stirbt in der Nacht und liefert 10 ccm dünnes, trübes, fast zellfreies Exsudat, dessen Trübung so gut wie ganz aus Vibrionen besteht. Wenige kleine, weifse Flocken am Netz mit dem gewöhnlichen Befunde. Ausstriche der Organe ergeben aus Leber und Milz je ca. 800—900, aus der Lunge 29, aus dem Herzblut 320 Kolonien.

Meerschweinchen 298, 530 g. Erhält 2 ccm frisches Exsudat 297 ip., stirbt nach 7 Std. und enthält 3 ccm dünnes, trübes, fast zellfreies Exsudat mit massenhaften, z. T. in Haufen liegenden Vibrionen. Keine Auflagerungen. Ausstriche aus Leber, Milz, Lunge und Herzblut ergeben dicht zusammenhängende Beläge.

Meerschweinchen 302, 350 g. Erhält zuerst 0,02 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf 1,5 ccm frisches Exsudat von 298 ip. Nach 2 Std. finden sich in der Bauchhöhle neben wenig Leukozyten und vielen Körnchen eine kleine

Zahl normaler, aber unbeweglicher Vibrionen. Nach 4 Std. fehlen Leukozyten noch immer; viele Granula, vereinzelte Vibrionen. Nach 15 Std. enthält die Bauchhöhle des sehr kranken Tieres eitriges Exsudat, noch immer Granula. Der Tod erfolgt nach ca. 40 Std. Starkes Hautödem, ohne Zell- und Bazillenbefund. In der Bauchhöhle ca. 2 ccm wenig trübes, dünnes Exsudat mit verhältnismäfsig recht wenigen, kleinen, polynukleären Leukozyten ohne Vibrionen und Körnchen. Sehr spärliche, fibrinöse, relativ zellarme Auflagerungen. (Nach dem Exsudatbefunde nach 15 Std. hätte eigentlich überall Eiter erwartet werden müssen!) In beiden Pleuren ca. 5 ccm fast zellfreie Flüssigkeit. Kulturen daraus, sowie aus Hautödem, Leber, Milz und Herzblut bleiben steril, eine Öse Peritonealexsudat liefert 300 Kolonien.

Meerschweinchen 303, 350 g. Geimpft wie 302, ohne Serum, stirbt in der Nacht und ergibt 7,5 ccm fast zellfreies, trübes, dünnes Exsudat mit massenhaften, teils einzelnen teils zusammengeballten Vibrionen, die länger werden als bisher. Keine Auflagerungen. Kulturen aus Milz Leber, Lunge und Herzblut ergeben dicht zusammenhängende Beläge.

Meerschweinchen 304, 720 g. Erhält 1,75 ccm frisches Exsudat von 303, stirbt nach 8½ Std. und liefert 9 ccm dünnes, trübes, fast nur Vibrionen enthaltendes Exsudat. Keine Auflagerungen. In der Bauchhöhle ca. 3 ccm wenig trübe Flüssigkeit mit spärlichen Zellen und Vibrionen. Ausstriche aus Milz und Leber ergaben ca. 500, aus Lunge 79, aus Herzblut 1280 Kolonien.

Meerschweinchen 307, 490 g. Erhält 1,5 ccm frisches Exsudat von 304, stirbt nach 14 Std. und enthält ca. 5 ccm leicht blutiges Exsudat mit einer geringen Zahl kleiner, polynukleärer Leukozyten mit Phagozytose und unzähligen Vibrionen. Sehr dünne, spärliche Auflagerungen. Kulturen aus Leber, Milz, Lunge und Herzblut ergeben dicht zusammenhängende Beläge.

Meerschweinchen 308, 510 g. Erhält zuerst 0,02 ccm Serum ›Pfeiffer‹, dann wie 307. Ist einige Tage krank und magert stark ab.

Meerschweinchen 309 (Gewicht nicht notiert). Erhält 1,25 ccm frisches Exsudat von 307, stirbt nach 10 Std. und enthält 9 ccm dünnes, trübes Exsudat mit Massen von Vibrionen, spärlichen kleinen, polynukleären Leukozyten, etwas mehr Endothelien. Milz auffällig vergröfsert und dunkel. Kulturen aus Milz, Leber und Herz ergeben dichte, solche aus Lunge reichliche, aber aus erkennbaren Kolonien zusammengesetzte Beläge.

Meerschweinchen 310 (Gewicht?). Erhält erst 0,02 ccm Serum ›Pfeiffer‹, dann wie 309 ip. Die fortlaufende Beobachtung ergibt nach 1 Std. nur Granula, Leukozyten strömen nach 3 Std. und später reichlich zu, sind aber meist zusammengeballt. Dennoch ist das Tier abends schwer krank, erholt sich nicht mehr ganz, magert ab und stirbt nach 4 Tagen marastisch ohne sonstigen Befund.

Meerschweinchen 314, 390 g. Erhält 1,5 ccm. Exsudat 309 ip., stirbt nachts und liefert ca. 10 ccm dünnes, wenig trübes Exsudat, das fast nur Vibrionen enthält. Keine Auflagerungen. Milz dunkel und stark vergröfsert. Kulturen aus Leber und Herz liefern dichte Beläge, die aus Milz und Lunge ca. 500 und 800 Kolonien.

Meerschweinchen 315, 375 g. Erhält erst 0,02 Serum »Pfeiffer«, dann wie 314 ip. Wird krank und magert stark ab.

Von den Tieren dieser mit Nr. 314 abgebrochenen Reihe wurden die Exsudate von 297, 303, 304, 309 und 314 auf ihr aggressives Verhalten geprüft. Alle Exsudate waren völlig klar zentrifugiert, sterilisiert war überdies das von Nr. 309. Wie bereits bei Nr. 267 wurde das aggressinhaltige Exsudat nicht nur gleichzeitig oder vor der Vibrionen-Immunserummischung eingespritzt, sondern nachträglich, zu einer Zeit, wo die aus der Bauchhöhle entnommenen Flüssigkeitsproben die alleinige Anwesenheit von Körnchen ergaben. Bei den stets in beträchtlichem Überschusse verwendeten Serummengen war das in kürzester Zeit erfolgt. Das Ergebnis der Aggressinanwendung war, wie immer, eine Abhaltung der Leukozyten oder eine Verzögerung ihres Zutritts, offenbar je nach Menge und Stärke des verwendeten Aggressins. Der Tod erfolgte immer, und zwar mehrmals früher als bei gleichzeitiger Aggressin- und Seruminjektion. Damit ist so gut wie sicher nachgewiesen, dafs es sich bei der Aggressinwirkung um eine Vergiftung handle, nicht als ob das aggressive Exsudat selbst giftig wäre, sondern so, dafs die eingespritzten Vibrionen hinreichend Gift enthalten, das durch die Immunserumbakteriolyse leicht und schnell zur Aufsaugung fähig gemacht wird. Während bei einem gewöhnlichen Pfeifferschen Versuche das freigewordene Gift offenbar durch die zuströmenden Leukozyten in irgend einer Weise unschädlich gemacht wird, bewirkt die durch das Aggressin herbeigeführte Zellabhaltung freie und ungehinderte Giftresorption, die entweder zum schnellen Tode innerhalb 24 Stunden oder zu einem mehr chronischen Vergiftungszustande mit Marasmus führt. Auf das Unzureichende der Bakteriolyse, das durch diese Versuche aufgedeckt wird, wurde bereits früher hingewiesen.[1])

Die Versuche wurden noch in einer andern Richtung erweitert. Da das Aggressin sich gegen die Leukozyten richtet, so lag der Gedanke nahe, dafs auch umgekehrt Leukozyten das

1) Wiener klinische Wochenschrift, 1905, Nr. 9.

Aggressin beeinflussen könnten. Kikuchi[1]) hat bereits für das Aggressin des Dysenteriebazillus nachgewiesen, dafs dasselbe durch Leukozytenbehandlung seine Wirkung vollständig einbüfst. Das gleiche gilt auch bei Cholera, nur dafs die Aggressivität hier nicht vollständig aufgehoben wurde. Die Versuchstiere blieben zwar am Leben, waren aber lange krank und magerten sehr stark ab. Quantitative Versuche stehen noch aus[2]).

Meerschweinchen 299, 200 g. Erhält zuerst 0,02 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf 3,5 ccm Exsudat + 1 Öse Choleraagarkultur aus 296 ip. Nach ¼ Std. nur Granula, wenig Leukozyten. Nach 3½ Std. treten die ersten Leukozyten auf, werden nach 6 Std. etwas zahlreicher, sind meist verklumpt und nehmen dann eher ab als zu. Der Tod tritt in der Nacht ein. In den wenigen Tropfen Flüssigkeit der Bauchhöhle finden sich ziemlich viele kleine, polynukleäre Zellen. Auflagerungen sind ansehnlich, die Milz ist vergröfsert. Vibrionen und Granula waren nicht zu finden, doch lieferte 1 Öse Exsudat 6 Kolonien.

Meerschweinchen 300, 205 g. Erhält 0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Cholera wie 299 Ip. Nach ¼ Std. sind in der Bauchhöhle nur noch Granula vorhanden, und es werden 3,5 ccm Exsudat 297 eingespritzt. Leukozyten treten in irgend erheblicher Zahl während 9 Std. nicht in die Bauchhöhle über, die Granula sind nach 2 Stunden verschwunden. Der Tod erfolgt in der Nacht. Starkes Hautödem ohne Befund. In der Bauchhöhle ca. 2½ ccm mäfsig trübes Exsudat mit ziemlich viel kleinen, polynukleären Leukozyten. Spärliche Auflagerungen, Milz vergröfsert. Vibrionen und Granula nicht zu finden. 1 Öse Exsudat ergibt 2 Kolonien.

Meerschweinchen 301, 175 g. Wird wie 300 geimpft, ohne nachträgliche Exsudatinjektion. Granulabildung nach ¼ Std. beendet, nach 2 Std. treten bereits reichlich Leukozyten auf, deren Zahl rasch ansteigt, so dafs sich nach 6 Std. zähes, dickes Eiter entnehmen läfst. Bleibt ohne Krankheit.

Meerschweinchen 305, 220 g. Erhält 0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Choleraagarkultur aus 297 ip. Nach ¼ Std. wenige, in Klumpen zusammengeballte Leukozyten; ausschliefslich Granula. Jetzt Jnjektion von 2 ccm Exsudat 303 ip. Leukozyten fehlen bis zu 3 Std. fast ganz und bleiben während der Beobachtungsdauer von 9 Std. äufserst spärlich. Das Tier ist dabei typisch krank und stirbt in der Nacht. Es enthält in der Bauchhöhle ca. 2,5 ccm fast klares, sehr zellarmes Exsudat ohne Vibrionen und Granula Von Auflagerungen findet sich nur ein vom Netz über den Magen zum

1) Berliner klinische Wochenschrift, 1905, Nr. 15.

2) Soweit bisher Versuche vorliegen, scheint das Typhusaggressin noch weniger durch Leukozyten beeinflufst zu werden, so dafs die Vermutung eines Zusammenhanges zwischen Parasitismus und diesen Verhältnissen naheliegt.

Leberrand ziehender fibrinöser Faden mit wenigen grofsen, polynukleären Leukozyten. In der Bauchhöhle ca. 3 ccm klarer, steriler Flüssigkeit. Ausstriche aus dem Peritonealexsudat liefern ziemlich reichliche Kolonien.

Meerschweinchen 306, 225 g. Erhält 0,02 ccm Serum »Pfeiffer«, gleich darauf die abzentrifugierten und gewaschenen Vibrionen aus den bei Nr. 305 verwendeten 2 ccm Exsudat 303 ip. Die Einspritzung erfolgt gleichzeitig mit der ersten bei Nr. 305, die verwendete Aufschwemmung der tierischen Vibrionen ist weniger trüb als die der Kulturbazillen. Nach $^1/_4$ Std. ist der Unterschied gegen Nr. 305 ganz auffallend. Es finden sich zwar sehr viele Granula, daneben aber ist etwa $^1/_3$ der Vibrionen gut erhalten, z. T. noch beweglich. Nach 1 Std. sind nur noch wenige, aber auch noch teilweise bewegliche Vibrionen vorhanden, nach 2 Std. sind nur Granula in erstaunlich grofser Menge zu finden und Leukozyten treten in geringer Zahl auf. Sie vermehren sich nicht stark bis zu 9 Std. Granula bleiben mit Ausnahme einer nach 6 Std entnommenen Probe immer zahlreich. Das Tier machte einen schwerkranken Eindruck. Nach 22 Std. war das Exsudat bei andauernder Krankheit des Tieres eitrig, mit grofsen Leukozytenklumpen, geworden. Granula waren ohne Mühe nachzuweisen. Der Tod trat in der Nacht des zweiten Tages ein; es fand sich eine relativ zellarme Flüssigkeit, in welcher Granulaphagozytose und vereinzelte normale Vibrionen nachweisbar waren. Reichliche Auflagerungen mit dem gewöhnlichen Befunde, meist grofsen, polynukleären Leukozyten mit spärlicher Granulaphagozytose. Auch hier einzelne Vibrionen.

Das zum folgenden Versuche mit Nr. 312 und 313 dienende Exsudat ist z. T. mit gewaschenen Leukozyten eines Exsudates von dem Ip. mit Aleuronat injizierten Meerschweinchen 311 behandelt. Ihre Menge war nicht sehr grofs, sie blieben $^1/_2$ Std. bei 37° mit dem Exsudat in Berührung und wurden dann abzentrifugiert.

Meerschweinchen 312, 210 g. Erhält 0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Cholera ip. Nach $^1/_4$ Std. nur Granula. Jetzt wird das mit Zellen behandelte Exsudat 304 eingespritzt. Nach 2 Std. sind eine Anzahl von weifsen Blutkörperchen, die meist verklumpt sind, in der Bauchhöhle vorhanden. Ihre Menge steigt allmählich an, ohne dafs man aber von Eiter während der 8stündigen Beobachtungszeit reden könnte. Erst am nächsten Tage findet sich Eiter. Das Tier wird elend und stirbt in der Nacht des 5. Tages ohne besonderen Befund marastisch.

Meerschweinchen 313, 225 g. Wird wie 312, aber mit unverändertem Exsudate geimpft. Auch hier waren vor der Exsudateinspritzung nur Granula vorhanden, die nach 2 Std. vollständig verschwanden. Leukozyten fanden sich nach 3 Std. in mäfsiger Zahl ein, nahmen dann aber oher ab und blieben jedonfalls während der 8stündigen Beobachtung spärlich. Der Tod trat nachts ein. In der Bauchhöhle fanden sich ca. 4 ccm wenig trüber Flüssigkeit, die aber doch mehr Zellen (kleine, polynukleäre) enthielt, als am Vortage beobachtet waren. Vibrionen und Granula fehlten. Von Auflagerungen war nur ein kleines Flöckchen am Leberrande vorhanden, das grofse, polynukleäre Leukozyten und einzelne Granula enthielt. Milz nicht

vergröfsert. Mäfsiges Hautödem. Kulturen aus Leber und Herzblut blieben steril, Milzausstriche lieferten 1, 1 Öse Exsudat etwa 1000 Kolonien.

Meerschweinchen 313a, 165 g. Wie 312, ohne nachträgliche Exsudateinspritzung. Auch hier sind nach $^1/_4$ Std. nur Granula vorhanden, die rasch (nach 2 Std. fehlen sie ganz) verschwinden. Schon nach 2 Std. zahlreiche Leukozyten, nach 3 Std. eitrig, nach 6 Std. dicker Eiter. Lebt.

Die Zellen für die Behandlung der nachfolgenden Exsudate entstammen der Bauchhöhle eines mit Aleuronat injizierten grofsen Meerschweinchens. Für jedes Exsudat wird die Hälfte der Zellen nach der oben angegebenen Methode verwendet.

Meerschweinchen 316, 200 g. Erhält erst 0,02 ccm Serum »Pfeiffer« + 1 Öse Cholera, nach $^1/_4$ Std. bei alleiniger Anwesenheit von Körnchen 2 ccm mit Toluol sterilisiertes, mit Zellen behandeltes Exsudat 309 ip. Die Zahl der Leukozyten steigt nicht bis zu 3 Std. Nach 6 Std. vermehren sie sich rasch, nach 9 Std. ist in der Bauchhöhle Eiter. Das Tier erscheint 2 Tage lang krank, erholt sich dann.

Meerschweinchen 317, 200 g. Wie 316 mit unverändertem Exsudate geimpft. Bis 6 Std. bleiben die Leukozyten sehr spärlich, dann tritt allmähliche Zunahme derselben ein, die aber mit der bei 316 nicht zu vergleichen ist. Am andern Morgen ist das Tier sehr hinfällig, enthält aber viel Leukozyten in der Bauchhöhle. Der Tod erfolgt in der Nacht des 2. Tages. Die Sektion ergibt weder flüssiges Exsudat noch Auflagerungen.

Meerschweinchen 318, 205 g. Genau wie 316, mit 1,5 ccm des völlig klar zentrifugierten, aber nicht sterilisierten Exsudates 314. Zellvermehrung tritt nach 5 Std. ein, wird rasch stärker, bis nach 9 Std. Eiter gefunden wird. Auch dieses Tier war sehr hinfällig, erholte sich noch wider Erwarten.

Meerschweinchen 319, 210 g. Genau wie 317, mit Exsudat 314. Die Leukozyten blieben bis zu 5 Std. sehr spärlich, vermehrten sich dann, aber ohne Vergleich weniger als bei 318. Am nächsten Tage lag das Tier kraftlos auf der Seite, lebte aber im ganzen 31 Std. In der Bauchhöhle fanden sich 2 ccm trübes Exsudat mit reichlichen, kleinen, polynukleären Leukozyten, ohne Granula und Vibrionen. Auflagerungen gering, mit dem gewöhnlichen Befunde und vereinzelten Vibrionen. Kulturen aus Exsudat lieferten 2, aus den Auflagerungen ca. 500 Kolonien. Das Herzblut war steril.

Auf die hohe Bedeutung der die Aggressivität von Bazillen neutralisierenden Eigenschaft der Leukozyten hat bereits Kikuchi nachdrücklich hingewiesen.

Das Hauptziel der Versuche war erreicht, indem nachgewiesen war, dafs alle Exsudate der serienweise geimpften Tiere schon in relativ geringen Mengen aggressiv waren. Immerhin zeigt auch hier das Exsudat 309 im Versuche mit Meerschweinchen 317 sowohl nach der Lebensdauer des Tieres als nach dem

Zellbefunde während des Lebens eine relativ schwächere Wirkuug, obwohl das Meerschweinchen 309 bereits dem Ende der Reihe nahestand. Es dürfte sich daher auch bei dieser Versuchsanordnung empfehlen, mit dem gewonnenen Exsudate nicht uuter 2,5 ccm herabzugeheu.

Die Reihenimpfungen wareu in der ausgesprochenen Absicht unternommen worden, den Halbparasiten der Cholera dem parasitischen Zustande zu nähern. Bei der hohen Wichtigkeit, die ein derartiger gelungener Versuch für viele Fragen haben würde, ist eine genaue und strenge Kritik der Reihen unbediugt erforderlich, wobei auch auf die Literatur etwas genauer eingegangen sei.

Es gelang Hueppe[1]) 1887, die Infektiosität der Cholera zu beweisen, indem er durch Anwendung intraperitonealer Impfuug schliefslich mit sehr geringer Menge Bouillonkultur Meerschweinchen töten konnte. Er erreichte dies durch Serienimpfungen, die bis zu 10 Tiere umfafste. Dabei war im Peritoneum der Tiere bei erfolgreich fortgesetzten Impfungen stets rein seröses Exsudat vorhanden. Ausführlichere Versuchsprotokolle werden dann angegeben in den Arbeiten von Gruber und Wiener[2]) 1892 und Voges[3]) 1894.

Voges kommt nach Ausführung einer Serie von 10 Tieren zu der Überzeugung, dafs es möglich sei, eine unbegrenzte Reihe von Meerschweinchen durch Exsudatimpfung zu töten, »sobald die injizierte Dosis gröfser ist als die Menge, welche durch die bakteriziden Kräfte des Tieres vernichtet wird.« Dafs es auf die Menge der Vibrionen allein sicher nicht ankommt, wird später an Gruberschen und eigenen Versuchen gezeigt werden. Leider gibt die Tabelle von Voges nichts bestimmtes über die Beschaffenheit des Exsudates an. Es läfst sich aus dem mehrfach angeführten Zusatze »reichliches Exsudat« nur schliefsen, dafs viele seiner Exsudate dünn, nicht eitrig waren. Weiter zeigeu seine Versuche, dafs man im Anfange eiuer Serie mehr Exsudat

1) Berliner klinische Wochenschrift, 1887, Nr. 9 u. 22.
2) Dieses Archiv, Bd. 15, S. 241.
3) Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 17, S. 195.

zur erfolgreichen Impfung notwendig hat als später. Denn 0,9 ccm Exsudat des vierten Tieres reichten zur Weiterführung der Serie nicht aus, wohl aber 2 ccm; später waren selbst 0,1 ccm genügend. Die am weitesten ausgedehnten und sorgfältig wiedergegebenen Reihen stellten Gruber und Wiener an, wobei sie zum entgegengesetzten Resultat wie später Voges gelangten, nämlich, dafs es unmöglich sei, »die Krankheit dauernd rein kontagiös, durch Übertragung von Tier zu Tier, fortzupflanzen«; »trotzdem in dem übertragenen Krankheitsprodukte oft massenhafte Vibrionen vorhanden sind« bleibt früher oder später der Erfolg der Übertragung aus.

Dieses Ergebnis, das für die Auffassung der Krankheitserregung von allergröfster Wichtigkeit ist und dem daher auch die genannten Autoren grofse Bedeutung beilegen, konnte durch die eigenen Kontagionsimpfungen durchaus bestätigt werden. Zwar sehen die II. und III. Reihe, ebenso wie die von Voges, auf den ersten Blick so aus, als ob sie eine beliebig lange Fortsetzung zulassen würden, aber eine genauere, unten auszuführende Betrachtung erweckt bereits Bedenken. Dazu kommt aber vor allem, dafs die I. Reihe tatsächlich beim sechsten Tiere abgebrochen ist und dafs einige andere Reihen, genau so wie einige von Gruber und Wiener, schon sehr bald aufhörten.

Meerschweinchen 236, 220 g. Erhält eine ältere Choleraagarkultur ip. Stirbt nach 8—9 Std. und enthält ca. 6 ccm dickes, trübes Exsudat mit vielen kleinen, polynukleären Leukozyten, ohne besonders starke Phagozytose, mit massenhaften, oft spirillenartigen Vibrionen. Leber, Därme etc. überall eitrig belegt, mit dem gewöhnlichen Befunde.

Meerschweinchen 239. Erhält 0,9 ccm frisches Exsudat von 236 ip. Lebt, ohne Krankheit gezeigt zu haben.

Um die Reihe nicht abbrechen zu lassen, erhält

Meerschweinchen 240, 230 g, 4 ccm des über Nacht kalt gestandenen Exsudates 236 ip. Überlebt ohne Krankheit.

Meerschweinchen 243, (Gewicht?). Erhält 2 Ösen Choleraagarkultur aus 236 ip. Stirbt in der Nacht und liefert ca. 9 ccm trübes, nicht sehr dickes Exsudat mit vielen, polynukleären Leukozyten und Granulaphagozytose. Massenhaft Vibrionen, oft in Haufen, verhältnismäfsig wenige, lange Spirillenformen. Wenige Auflagerungen mit dem gewöhnlichen Befunde.

Meerschweinchen 245, (Gewicht?). Erhält 1,75 ccm frisches Exsudat von 243 ip. Lebt.

Meerschweinchen 253, 450 g. Erhält 1 Öse Cholera ip. Stirbt in der Nacht. In der Bauchhöhle findet sich kein eigentliches Exsudat, aber viele eitrige Beläge. Die mit NaCl-Lösung (3 ccm) gewonnene Spülflüssigkeit enthält viel Leukozyten mit starker Phagozytose, aber auch zahlreichen, langen Vibrionen, und wird dem

Meerschweinchen 254 eingespritzt. Das Tier war am Abend schwer krank, am andern Tage erholt. Es erhielt jetzt eine ganze Agarkultur aus 253 ip. Das in der Nacht gestorbene Tier lieferte ca. 16 ccm trübes, mit weichen Eiterflocken erfülltes Exsudat und wies überall Eiterauflagerungen auf. Vibrionen waren typisch, aber nicht zahlreich.

Meerschweinchen 255, 500 g. Erhält 5 ccm frisches Exsudat von 254. Lebt.

Meerschweinchen 256. Erhielt eine ganze Agarkultur aus 254 ip. Stirbt in der Nacht mit dem Bilde schwerster Infektion, eiterfreier Bauchhöhle und ca. 10 ccm Exsudat mit massenhaften Vibrionen.

Meerschweinchen 257. Erhält 5 ccm frisches Exsudat von 256 ip. Stirbt nach ca. 8 Std. und enthält 2 ccm zellreiches Exsudat mit starker Phagozytose, massenhaft Vibrionen, viele lang und meist in Haufen. Viele Auflagerungen.

Meerschweinchen 258. Erhält 2 ccm frisches Exsudat von 257 ip. Ist am nächsten Tage deutlich krank, erholt sich dann aber sehr rasch.

Der unmittelbare Eindruck solcher Versuche erhellt am besten aus der an den Rand des Protokolles von Nr. 258 niedergeschriebenen Bemerkung: »Der Bazillenmenge nach hätte das Tier ganz gut sterben können.« Eine ganz ähnliche Bemerkung machen Gruber und Wiener (a. a. O. S. 487).

Für einen Erklärungsversuch dieser Erscheinungen sind offenbar drei Momente zu berücksichtigen: 1. Menge und Beschaffenheit der verimpften Vibrionen; 2. Menge und Beschaffenheit des gleichzeitig eingeführten Exsudates; 3. Besonderheit des jeweiligen Versuchstieres.

Um alle diese Verhältnisse auch nur annähernd beurteilen zu können, reichen die bisher angestellten Reihenimpfungen weder der Zahl noch der Art der Ausführung nach aus. Es wäre sehr leicht, in der Verschiedenheit des Gewichtes der Versuchstiere z. B. direkte Fehler aufzufinden. Denn daſs ein Meerschweinchen von 200 und ein solches von 500 g ganz verschiedene Tiere sind, ist längst bekannt. Dennoch genügen die Reihen,

um einige wichtige Erscheinungen hervortreten zu lassen. Es zeigt sich vor allem, dafs die Serien dort abbrechen, wo das vorhergehende Tier eitriges Exsudat liefert, wobei das Aufhören der Infektiosität entweder ein unmittelbares ist, oder doch im nächsten Tiere erfolgt. Auch hierin stimmen die Versuche Grubers mit den hier mitgeteilten überein, soweit sich das aus den Protokollen ersehen läfst. So hören die Reihen 1, 2, 8, 8a, 10 mit dem Eitrigwerden des Exsudates auf, Reihe 11, wo das Exsudat mit reichlichem Vibrionengehalt serös bleibt, geht weiter. Für die Reihe 12 schuldigt Gruber selbst die zu geringe Impfmenge als Grund des bevorstehenden Mifserfolges an, vielleicht gilt das gleiche für die Reihen 9 und 13, wo das Exsudat zwar serös bleibt, die Vibrionenzahl aber abnimmt. Nur die kurzen Serien 3 und 7[1]) von Gruber, wo ein seröses Exsudat mit viel Vibrionen und doch negativem Impferfolg verzeichnet sind, lassen sich schwer beurteilen.

Im ganzen aber stimmen die eigenen und die Reihen von Gruber und Wiener darin überein, dafs das Auftreten von Eiter bei einem Tiere der Serie den Impferfolg unsicher macht. Derartige Exsudate können dabei, ebenfalls übereinstimmend mit Gruber und Wiener, so grofse Mengen von Vibrionen enthalten, dafs das Nichteintreten von Krankheit und Tod geradezu wie eine Schutzwirkung aussieht.

Die oben erwähnten Befunde, dafs Leukozyten die Aggressivität einer Flüssigkeit beeinträchtigen oder aufheben, scheinen für eine Erkläruug geeignet zu sein. Dort, wo der Vibrio von Leukozyten umgeben ist, verhält er sich bei Hemmung seiner Aggressivität wie ein harmloser Saprophyt. Das mit einem solchen Exsudat geimpfte Tier ist daher fähig, Leukozyten in seine Bauchhöhle treten zu lassen, die ihrerseits an der Beseitigung des etwa neu entstehenden Aggressins sowie des gebildeten Giftes arbeiten und überdies als Phagozyten die Vibrionen selbst zerstören. Es bedarf nicht erst des Hinweises, dafs quantitative Verhältnisse eine grofse Rolle spielen müssen; man braucht in

1) Vgl. dazu a. a. O. S. 286 u. 267.

dieser Hinsicht nur an die Erscheinung zu erinnern, daſs trotz zahlreicher, nach Bouilloneinspritzung lebenskräftig in der Bauchhöhle angesammelter Zellen durch entsprechende Steigerung der Impfmenge erfolgreiche Infektion erzwungen werden kann[1]). Auf diese Weise ist es auch zu erklären, daſs nach Entfernung der Zellen aus einem solchen Exsudate noch erfolgreiche Weiterimpfung möglich ist, wobei freilich auch noch gröſsere Mengen Flüssigkeit verwendet werden sollten. Der einzige bisher angestellte Versuch, einen Unterschied in der Infektiosität eines Exsudats bei Anwesenheit und nach Entfernung der Zellen aufzufinden (Nr. 282 und 283), gelang nicht, wohl deshalb, weil eben die quantitativen Verhältnisse nicht berücksichtigt wurden. Dabei bleibt stets noch zu bedenken, daſs ein Vibrio, der in einer eitrigen Bauchhöhle sich entwickelt, wo er nicht genügend Aggressin bilden kann, auch an sich Veränderungen erfahren dürfte, die ihn dann unfähig machen, bei der nächsten Übertragung sofort wieder in relativ geringer Menge die nötige Aggressivität aufzubringen. Da gleichzeitig das miteingespritzte Exsudat mit sinkender Menge nicht mehr aggressiv ist, so wirkt es eher leukozytenanlockend als -abstoſsend, und das Ergebnis ist dasselbe wie bei einem Tiere, das z. B. untertödliche Bazillenmengen mit unwirksamem Aggressin erhalten hat und das unter rascher Leukozyteneinwanderung in die Bauchhöhle am Leben bleibt. Sobald also innerhalb einer Reihe ein Tier infolge seines Alters oder seiner individuellen Disposition überhaupt mit Eiter in der Bauchhöhle reagiert, ist das Resultat der ganzen Serie in Frage gestellt, besonders dann, wenn durch Herabgehen mit der Impfmenge sowohl die Zahl der Bazillen wie die Menge des mitverimpften aggressiven Exsudats stetig verkleinert wird. Wird jetzt von einem solchen Tiere aus das nächste z. B. mit der gleichen Gabe infiziert, so erhält es noch weniger Aggressin, überdies

1) Daſs sich unter solchen Verhältnissen selbst ein für andere Tiere wirksames Aggressin gewinnen läſst, ist bereits an anderer Stelle (dieses Archiv, Bd. 52, S. 366) mitgeteilt. Die daselbst ausgesprochene Vermutung, daſs gerade unter solchen Verhältnissen sich besonders wirksame Aggressine gewinnen lassen könnten, hat sich nicht bestätigt.

Zellen, welche das etwa neu entstehende sofort bis zu einem gewissen Grade paralysieren können, und schliefslich auch Vibrionen, die vielleicht gar nicht mehr so aggressiv sind, selbst wenn ihre Zahl die gleiche oder selbst gröfser wie früher wäre.

Damit ist aber auch die Frage, ob es bisher gelungen ist, den Choleravibrio durch fortgesetzten Aufenthalt im Tierkörper zum echten Parasiten zu machen, im wesentlich verneinenden Sinne beantwortet. Gewifs wird es gelingen, eine ununterbrochene Reihe erfolgreicher Tierimpfungen zu erzielen, wenn man stets durch grofse Mengen Exsudats Verhältnisse wie die eben geschilderten vermeidet, was gewifs möglich ist, besonders wenn man z. B. die Zellen eines sonst ungeeignet erscheinenden Exsudats vor der Injektion entfernt. Bei immer absinkender oder dauernd gleichbleibender, aber kleiner Infektionsmenge läfst sich aber nach den bisherigen Ergebnissen, in Übereinstimmung mit Gruber und Wiener, ein schliefsliches Aufhören des Impferfolges sicher vorhersagen. Das heifst aber, dafs es nicht gelungen ist, den Choleravibrio zum echten Parasiten zu machen, der schon in kleinster Zahl unter allen Umständen genug aggressiv wäre, um im Tiere zu wachsen. Ob dies möglich wäre, wenn man vorher den Vibrio lange Zeit als Halbparasit im Tierkörper halten würde, ist nicht ohne den Versuch zu entscheiden, der jedenfalls ganz unverhältnismäfsige Lebensopfer erfordern würde.

Gleichwohl ist nicht zu verkennen, dafs eine gewisse Annäherung an den parasitischen Zustand zu erreichen ist. Hierher gehört auch die von Kikuchi bei entsprechenden Dysenterieversuchen ermittelte Beobachtung, dafs der Keimgehalt der Organe und des Blutes von solchen Serientieren ein ganz auffällig hoher ist, was trotz der Schwierigkeit, diesen Umstand richtig zu ermitteln und zu beurteilen, fast überall in Erscheinung tritt. Gerade der Befund, dafs bei Nr. 314 der III. Reihe der Keimgehalt einiger Organe ganz unvermittelt absinkt, läfst vermuten, dafs bereits eine Störung der Serienimpfung bevorsteht.

Deutet schon die Neigung, den Körper zu durchwuchern, die trotz der Unmöglichkeit zahlenmäfsiger Angaben deutlich

hervortritt, auf eine gewisse Annäherung an den parasitischen Zustand hin, so spricht im gleichen Sinne die Erscheinung, dafs wirksame Immunsera gegen die tödliche Impfung mit Exsudat von Serientieren nur noch mangelhaft schützen, d. h., dafs der Vibrio eine gewisse Unempfindlichkeit gegen bakteriolytische Einflüsse annimmt. Es handelt sich allerdings nur um eine relative Widerstandskraft: nur die kleinen, wenn auch noch immer überschüssigen Serummengen der I. Reihe werden wirkungslos, nicht die gröfseren, die bei der III. Reihe angewendet wurden. Das ist auch deshalb bedeutungsvoll, weil damit festgestellt ist, dafs zwischen der bei tierischen Typhusbakterien jederzeit zu findenden Unempfindlichkeit gegen Immunserum und dem scheinbar entgegengesetzten Verhalten der Choleravibrionen kein grundsätzlicher Unterschied besteht. Es läfst sich mit grofser Wahrscheinlichkeit aussagen, dafs der Typhusbazillus wegen seiner den Parasiten sich nähernden Eigenschaften von vornherein durch einfachen Aufenthalt im Tierkörper Unempfindlichkeit gegen die Bakteriolyse annimmt, während das bei dem noch sehr saprophytischen Choleravibrio erst durch längeres, künstlich erzwungenes Wachstum innerhalb eines lebenden Organismus erreicht wird. Gleichwohl gehen alle diese Eigenschaften verloren, sobald die Vibrionen in ein Tier gelangen, das aus irgend welchen Gründen reichlich Leukozyten an den Infektionsort zu bringen imstande ist. Tiefgehend kann somit die Annäherung an den parasitischen Zustand, dessen unmittelbare Aggressivität von vornherein alle Zellen fernhält, nicht gewesen sein.

Mit dem ziemlich unbestimmten Begriffe der Virulenz ist bei solchen Versuchen wenig anzufangen. Ein aus einer eitrigen Bauchhöhle gezüchteter Choleravibrio hat, wie ebenfalls Gruber und Wiener schon fanden, seine krankmachende Fähigkeit nicht verloren; es könnte sich höchstens um minimale Unterschiede handeln.

Es liegen hier Probleme von grofser, allgemeiner Bedeutung vor. Biologisch die Frage der Anzüchtung und eventuell Vererbung nicht ganz neuer, aber gesteigerter Eigenschaften, für die Pathologie und Hygiene die Frage, ob ein Krankheitserreger bei

andauernder Kontagion seinen Infektionswert durch Übergang vom Halbparasiten zum Parasiten steigern kann. Es liegt wenig daran, wenn die mitgeteilten Versuche nach Art und Vollständigkeit nicht viel zur Entscheidung beitragen: wenn nur gezeigt ist, daſs durch Verwendung des Begriffes der Aggressivität eine neue Behandlungsweise möglich ist. Deshalb sei noch kurz ein Reihenversuch mit Kaninchen (von ca. 1000 g) angeführt, der viel Übereinstimmung mit den früheren zeigt.

Kaninchen 83 erhält 2 Agarkulturen Cholera ipl. Stirbt in der Nacht. In der rechten Brusthöhle ca. 4, in der linken 2,5 ccm trübes, etwas dickes Exsudat. Darin massenhaft Vibrionen, nur kurze Formen, ziemlich schlecht gefärbt. Zahlreiche, polynukleäre Leukozyten mit starker Phagozytose, die aber viel weniger Körnchen als normale Vibrionen betrifft. Kleinflockige Auflagerungen auf Pleura und Lunge mit ungefähr dem gleichen Befunde. Kulturen (1 Öse) lieferten aus Milz 2000, Leber 1800, Niere 82, Herzblut 2500 Kolonien.

Kaninchen 84 erhält 6 ccm (gemischtes) Exsudat von 83 ipl. Tod nach 9 Std. In der Brusthöhle nur ca. 1 ccm blutige Flüssigkeit, die fast nur Vibrionen, meist in kleinen Haufen, enthält. In der Bauchhöhle ca. 12 ccm trübes, etwas dickes Exsudat, mit sehr wenig Zellen und massenhaften Vibrionen in derselben Anordnung wie in der Brusthöhle. Milz vergröſsert. Hämorrhagien am Magen und Netze.

Kaninchen 85 erhält 3 ccm frisches Exsudat von 84 ipl. Tod nach 12 Std. In der rechten Brusthöhle ca. 3 ccm trübes, dünnes Exsudat, das fast keine Zellen, aber massenhaft Vibrionen, meist in Haufen, enthält. Keine Auflagerungen; in der linken Brusthöhle und der Bauchhöhle kein Exsudat. Je 1 Öse Milz, Niere, Leber und Herzblut liefern 402, 89, 732 und ca. 5300 Kolonien.

Kaninchen 86 erhält erst 0,05 ccm Serum »Pfeiffer« iv., nach 10 Minuten 1,5 ccm frisches Exsudat 85 ipl. Schon nach 4 Std. deutlich hinfällig, stirbt das Tier nach 7 Std. In der rechten Brusthöhle ca. 5 ccm leicht blutiges Exsudat mit ziemlich vielen polynukleären Zellen [1]); diese zeigen Phagozytose, die aber fast nur normal aussehende Vibrionen betrifft. Massenhaft Vibrionen, fast alle in Haufen, mehrfach schlecht gefärbt, aber ohne Granulabildung. Keine Auflagerungen. Links ca. 3 ccm weit weniger trübe Flüssigkeit mit spärlichen Zellen, vielen, aber nicht so reichlichen Vibrionen wie im anderseitigen Exsudate. Milz vergröſsert. Ausstriche aus beiden Exsudaten der Leber, Milz und dem Herzblute liefern dichte Beläge.

---

1) Die Unterscheidung in groſse und kleine polynukleäre Leukozyten läſst sich beim Kaninchen weit weniger leicht als beim Meerschweinchen durchführen.

Kaninchen 87, geimpft wie 86, ohne Serum. Stirbt in der Nacht, 14 bis 20 Std. Rechts ca. 9 ccm trübes, sehr zellarmes Exsudat mit massenhaften Vibrionen, die sämtlich in Häufchen liegen. Ziemlich viele zarte Auflagerungen, die fast nur aus niedergeschlagenen Vibrionenhaufen bestehen. Links ca. 4 ccm Exsudat von gleicher Beschaffenheit wie rechts. Milz vergröfsert. Von je 1 Öse Niere gehen 2 Kolonien, von Leber und Milz dicht gedrängte Kolonien auf, Herzblut liefert einen zusammenhängenden Belag.

Kaninchen 88 erhält 1,5 ccm frisches Exsudat 87 + 0,01 ccm Serum »Pfeiffer«, beides unmittelbar vor der Einspritzung gemischt, ipl. Ist am nächsten Tage krank und wird nach 3 Tagen verblutet. Es finden sich nur rechts ca. 3 ccm leicht blutiges Exsudat mit zahlreichen Leukozyten, von denen viele typische Granula enthalten. Reichliche, bereits ziemlich trockene Auflagerungen mit dem gleichen Befunde. Kulturen aus Herz, Leber, Exsudat und den Auflagerungen ergeben kein Wachstum.

Kaninchen 89, geimpft wie 88, ohne Serum. Stirbt erst nach 30 Std. und enthält 16 ccm trübes Exsudat mit spärlichen, polynukleären Zellen und massenhaften Vibrionen. Reichliche Auflagerungen, die aber wohl gröfstenteils aus Fibrin bestehen, sehr zellarm sind, hingegen viele Vibrionen enthalten; in den Zellen starke, z. T. Granulaphagozytose. Milz grofs. Kulturen liefern mit 1 Öse: Exsudat ∞, Milz 0, Leber 1, Niere 0, Herz 123 Kolonien.

Kaninchen 92, 1400 g. Erhält 1,5 ccm Exsudat 89 ipl. Lebt, magert ab. Dann Erholung.

Auch hier tritt das Aufhören der Infektiosität ganz auffallend in Erscheinung; vielleicht ist der Abbruch, der sich übrigens von Kaninchen 87 an bereits leise ankündigt, deshalb so plötzlich erfolgt, weil das letzte Tier 92 etwas gröfser war. Die Unwirksamkeit des Immunserums ist auf dem Gipfel der Infektiosität bei Nr. 86 sehr deutlich, später verschwindet diese Erscheinung bei Verwendung der doppelten Serummenge und gleichzeitiger Einspritzung. Ein Aggressinversuch mit dem Exsudate von Nr. 84 hatte Erfolg.

Kaninchen 90 erhält 3 ccm zentrifugiertes, sterilisiertes Exsudat von 84 + 1 Öse Choleraagarkultur aus 84 ipl. Der Tod erfolgt nach ca. 32 Std. In der rechten Brusthöhle ca. 5 ccm fast zellfreies Exsudat mit massenhaften, in Häufchen wachsenden Vibrionen. Keine Auflagerungen. Links ca. 2 ccm ähnlicher, aber vibrionenärmerer Flüssigkeit. Milz vergröfsert. Kulturen mit 1 Öse aus beiden Exsudaten und dem Herzblut ∞, aus Milz und Leber ca. 3000 Kolonien.

Kaninchen 91 erhält 1 Öse Choleraagarkultur aus 84 in 3 ccm NaCl ipl. Stirbt am Abend des 4. Tages und enthält trübes, zellreiches Exsudat mit starker Phagozytose, spärlichen, aber gut aussehenden Vibrionen. Reichliche Auflagerungen, deren Zellen viele kleine Körnchen (keine typischen Granula) enthalten. Kulturen aus Exsudat gehen üppig auf, sonst war das Tier cholerafrei.

Im ganzen dürfte eine gewisse Übereinstimmung mit den Meerschweinchenreihen nicht zu verkennen sein. Über eine Erklärung der Abweichungen läfst sich kaum etwas sagen.

In Kürze sei noch auf den eigentümlichen Befund bei Meerschweinchen 306 hingewiesen, das gewaschene, tierische Vibrionen eines Serientieres mit Immunserum zusammen erhalten hatte. Die Serummenge war sehr grofs, dennoch tritt die geringere Bakteriolyse deutlich hervor. Höchst auffalleud aber ist, dafs sich auch hier, ohne Auwendung von Aggressin und trotz schliefslich vollständiger Granulabilduug, die Hyperleukozytose im Peritoneum so sehr verzögert. Solche Befunde, deren Studium fortgesetzt wird, erwecken die Hoffnung auf eine Möglichkeit der Erklärung der Aggressivität.

Im Anfange dieses Jahres berichteten Pfeiffer und Friedberger über Versuche, bei denen es ihnen gelang, mit Hilfe von normalem Serum verschiedener Tiere, das vorher mit Vibrionen behandelt war, nicht nur die Immunserumwirkung zu unterdrücken, sondern auch mit untertödlichen Dosen Meerschweinchen zu töten. Die anscheinend übereinstimmende Wirkung dieser Sera mit Aggressinen besteht bei näherer Betrachtung nicht. Es sei nur darauf hingewiesen, dafs die Versuche mit Meerschweinchenserum nicht gelaugen und dafs die Bakteriolyse gehindert wurde, während die bisher vorwiegend benutzten Aggressine gerade Meerschweinchenflüssigkeiten sind und die Bakteriolyse selbst nicht hemmen. Pfeiffer und Friedberger schliefsen aus ihren Versuchen auf die Auwesenheit neuer, hemmender Stoffe im Serum. Eigene Versuche, die in Gemeinschaft mit Dr. Kikuchi angestellt wurden, ergaben ein ganz anderes Resultat bei Wiederholung der wichtigen Experimente der genannten Forscher. Nicht neue Stoffe haben Pfeiffer und Friedberger im Serum entdeckt, wohl aber die Existenz der Bakteriolysine (als Stoffe betrachtet) auf das tiefste erschüttert.

Über anaërobe Mundbakterien und ihre Bedeutung.

I. Mitteilung.

Von

Dr. Antonio Rodella.

Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums zu Lodi.

(Mit einer Tafel.)

Das Studium der Bakterien der menschlichen Mundhöhle hat in den letzten Jahren außerordentlich an Interesse und Bedeutung gewonnen. Der alte Spruch: Prima fit in ore digestio, konnte keine bessere Bestätigung und Illustrierung finden als gerade durch die modernen bakteriologischen Untersuchungsergebnisse. Es mußte sowohl die gärungserregende Eigenschaft der Mundbakterien anerkannt als auch zugegeben werden daß sie nicht nur in der Mundhöhle sondern auch im Magen und dem übrigen Darmtraktus Gärungsprozesse zu entwickeln vermögen, da der Magensaft nur einen geringen Bruchteil derselben abzutöten imstande ist, so daß dieses Studium für die menschliche Physiologie und Pathologie von immer größerer Wichtigkeit wurde. Die Hygiene hat auch die Bedeutung dieser Forschungen zu schätzen und die gewonnenen Resultate richtig auszunützen gewußt.

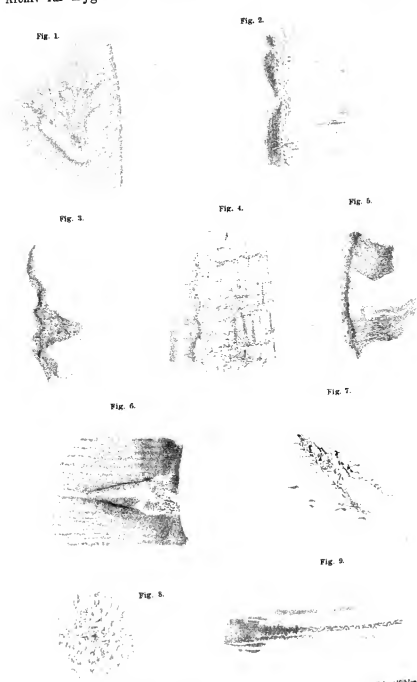
Heutzutage kann man sagen, daß die Mundhygiene für jedes Alter und jeden Stand eine große Rolle spielt. Ich betone »für jedes Alter«, da, während früher viele Ärzte den Milchzähnen keine Aufmerksamkeit schenkten, weil sie ja den permanenten Zähnen Platz machen müßten, man jetzt weiß, daß, wie

Miller treffend bemerkt, »schlechte Zähne für das Allgemeinbefinden der Kinder ebenso schlechten Einflufs haben wie schlechte permanente Zähne für das allgemeine Wohlbefinden der Erwachsenen«. Aufserdem hat ein schadhafter Zustand des Milchgebisses einen recht nachteiligen Einflufs auf die Entwicklung des Kiefers und der permanenten Zähne. In dieser Beziehung folgert Spiegelberg ganz richtig, dafs »wie der Grofsverbrauch eines Volkes an Seife sprichwörtlich einen Gradmesser für die Kulturstufe und den Wohlstand abgeben soll, man in gleichem Sinne die Sorgfalt in der Mund- und Zahnpflege ihrer Kinder zum Mafsstabe für hohes Verständnis und Können in einer Familie machen könnte«.

Was die Erwachsenen betrifft, so weifs jedermann, welche Wohltat ein gut gepflegter und gesund erhaltener Mund sei. Der Wunsch, die Mundhöhle sauber zu halten, wird beinahe zum Instinkt. Die instinktiven Mafsregeln zur Erhaltung eines gesunden Mundes sind aber nicht hinreichend. Es ist nötig, von den Prozessen, die sich in der Mundhöhle abwickeln, und von der Bedeutung mancher Gärungen etwas nähere Kenntnis zu haben, um letztere in den richtigen Grenzen zu halten, damit sie nicht pathologischer Natur werden. Empirische Kenntnisse sind hier nicht genügend, es mufs vielmehr die Wissenschaft mit ihrer Forschung tätig sein, die Resultate dieser Forschung müssen geordnet und dann aus der systematischen Zusammenstellung aller die bestmöglichen Früchte zur Wohlfahrt der Menschheit abgeleitet werden.

Zweck der vorliegenden Mitteilung[1]) ist nun der, einen neuen Weg für die Forschung zu zeigen, die bis jetzt von zu einseitigen Mitteln Gebrauch gemacht hat. Gestützt auf die neuen Resultate und mit näheren Kenntnissen über die unzähligen Feinde ausgerüstet, die wir in unserer Mundhöhle beherbergen, werden wir leichter imstande sein, Mittel und Wege kennen zu lernen, die zu benützen wären, um die notwendigen prophylaktischen

1) Die hier mitgeteilten Untersuchungen wurden im städtischen bakt. Laboratorium zu Padua vorgenommen.



Lith Anst. v Hubert Köhler, Mchn

Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.

Mafsnahmen im Interesse des Volkswohles durchzusetzen. Hierbei spielen Schule, Gewerbebetrieb und Heer eine bedeutende Rolle, und in allen hochzivilisierten Ländern sucht man bereits Fachleute für diese drei Kategorien anzustellen. Dieses Beispiel wird auch von den anderen Ländern nachgeahmt werden, wenn dort die Odontotherapie aus dem Empirismus, worin sie gröfstenteils noch liegt, sich zur Wissenschaft aufgeschwungen haben wird.

Zur Erlangung einer exakten Kenntnis von den physiologisch-pathologischen Gärungsprozessen des Darmtraktus und der Mundhöhle sind neue chemisch-physiologische Studien nötig, vor allem aber eine systematische Forschung der lebenden Gärungserreger unter Anwendung einer ganz anderen Technik, als man bis jetzt eingeschlagen hat. Wir kommen somit auf die gleiche Anschauung zurück, die wir vor zwei Jahren in der Zeitschrift für Hygiene in der Sache geäufsert haben. Jede Bestrebung, die der Bewegung für das neue Verfahren Vorschub leistet, scheint mir annehmenswert, mögen auch die gewonnenen Resultate als dürftig und unzulänglich bezeichnet werden können. Aus diesem Grunde erlaube ich mir, auch meine Befunde über die Mundanaërobien mitzuteilen, trotzdem sie unvollkommen sind.

Ich habe meine Untersuchungen auf das Gebiet der Anaërobien beschränkt, um nicht in den Fehler zu verfallen, den Miller offen zugestanden, die späteren Forscher aber dessenungeachtet nicht vermieden haben: »Ich selber sowohl als andere, die sich mit diesem Gegenstand beschäftigt, haben den Fehler begangen, dafs ich den unausführbaren Versuch gemacht habe, sämtliche isolierten Bakterienarten einer Prüfung zu unterziehen, statt mich auf einzelne Arten zu beschränken und dieselben möglichst gründlich nach allen Richtungen hin zu prüfen. Man erzielte meistens nur allgemeine Resultate und die Arbeiten verschiedener Forscher deckten sich anstatt sich zu ergänzen. Es besteht infolgedessen eine Verwirrung in unseren Anschauungen über die Bakterien der Mundhöhle, welche nur mit einem enormen Arbeitsaufwand aufgehellt werden kann.«

Ich habe bereits an anderem Orte angegeben, bei welcher Gelegenheit ich mich der Anaërobenkulturen bedient habe, in

der Hoffnung, diejenigen Mundbakterien zu isolieren, welche bis jetzt als unzüchtbar bezeichnet wurden. Die Notwendigkeit, bei den bakteriologischen Untersuchungen der Mundhöhle zur Anaërobiose Zuflucht zu nehmen, wurde übrigens schon 1892 von Miller (wahrscheinlich nur aus Gründen der Methodik) anerkannt. Er sagte in der Tat: »Die bei der Züchtung von streng anaërobiotischen Bakterien angewandten Verfahren (die Anlagen von Kulturen bei Luftabschlufs, in einer Atmosphäre von Wasserstoff etc.) müssen selbstverständlich auch bei den Munduntersuchungen zur Anwendung kommen, obgleich man im Munde a priori eher fakultativ anaërobiotische Mikroorganismen vermuten dürfte als streng anaërobiotische: eine Vermutung, welche mit den Versuchsergebnissen übereinzustimmen scheint.« Diese aprioristischen Vermutungen finden nicht nur in den Untersuchungen Millers eine Bestätigung sondern auch in den vielen Studien, die vom Jahre 1892 bis zu unseren Tagen gemacht wurden: ein weiterer Beweis, welche Kraft eine vorausgefafste Meinung auch auf Resultate experimenteller Untersuchungen ausüben kann. Die menschliche und experimentelle Pathologie hätte indes die Forscher auf den richtigen Pfad führen sollen.

Schon im Jahre 1886 erwähnte Konrad einen Fall von Tod durch Tetanus, verursacht durch Extraktion zweier Zähne. Derartige Fälle haben sich in der Literatur des Gegenstandes in grofser Anzahl angesammelt. Auch in jüngster Zeit hat Dr. Bandisch einen Tetanusfall erwähnt, welcher nach seinem Dafürhalten der Wirkung eines unsauberen Zahnstochers, mit dem der Betreffende in einem Zahn herumzubohren pflegte, zuzuschreiben war. Aber auch abgesehen von solchen Fällen, bei denen ein infiziertes Instrument oder sonst ein Gegenstand als Ursache angenommen werden kann, registriert die Pathologie auch Fälle, die weder Wunden noch äufserem Einflufs zuzuschreiben sind. So erwähnte Marshall einen Fall von emphysematöser Gangräne, die, von einem abszedierten kariösen untern Weisheitszahn ausgehend, nach einem schweren, mit profusem Eiter, Schwellung und Abstofsung von grofsen nekrotischen Massen verbundenen Verlaufe in 12 Tagen tödlich endete.

Obwohl bei diesem Fall keine Erwähnung vom ätiologischen Agens gemacht wird, noch weniger angegeben, ob ein obligat Anaërobium in Frage stand, darf man doch dank der in den letzten Jahren gemachten Untersuchungen über emphysematöse Gangräne annehmen, dafs die Ursache der Gangräne unter den Anaerobien zu suchen war. Noch beweisender ist der von Frosch geschilderte Fall, bei welchem genaue bakteriologische Untersuchungen angestellt wurden, welche zur Entdeckung eines anaërobiotischen Organismus führten. Frosch fand bei der Obduktion eines an Diphtherie gestorbenen Kindes einen Gasabszefs, welcher auch nach der Meinung des Untersuchers den Anaërobien zuzuschreiben war.

Die Tierversuche ergaben auf diesem Gebiete sehr interessante Resultate. So schreibt Miller: »Während meiner Untersuchungen über die Bakterien der gangränösen Zahnpulpa fand ich ein Bakterium, das, Mäusen subkutan beigebracht, sich durch das Hervorrufen eines gangränösen Prozesses auszeichnete. Schon 24 Stunden nach der Infektion war eine erbsengrofse Geschwulst vorhanden, die bei Eröffnung mit zahlreichen Gasblasen vermengten Eiter von höchst üblem Geruch entleerte. Die Infektion liefs sich durch geringe Eitermenge von einem Tier auf ein anderes durch mehrere Generationen umimpfen; den aus solchen Geschwüren gezüchteten Bakterien fehlte die charakteristische Wirkung ganz, so dafs ich daraus schliefsen mufste, dafs die spezifischen Bakterien sich nicht züchten lassen. Dafs man bei fortgesetztem Forschen andere dieser Gruppe angehörige Organismen entdecken wird, bezweifle ich nicht.«

Obwohl von verschiedenen Autoren angenommen wird, dafs auch einige gasbildende Aërobien den Abszefs und die emphysematöse Gangräne hervorrufen können, darf man doch, gestützt auf die neueren Mitteilungen, dafür halten, dafs zur Entstehung dieser Prozesse in der Regel Anaërobien nötig sind. Dagegen ist man nicht einig, welche Arten von Anaërobien diese Erkrankungen verursachen. Ist der Bacillus putrificus Bienstock, der, wie wir später dartun werden, ein steter Bewohner der gangränösen Zahnpulpa ist, auch imstande, einen Gasabszefs hervor-

zurufen? Diese Frage mufs ich bejahen. Ich halte es von Interesse, den folgenden von mir untersuchten Fall mitzuteilen.

Bei Untersuchung eines Eiters, welcher aus einem Gasabszefs stammte, fand ich neben Bacterium Coli und Kokken auch zwei Anaërobien. Das eine war Gelatine nicht verflüssigend, während das andere nicht nur die Gelatine verflüssigte sondern auch imstande war, alle Eiweifsarten (Kasein, Serumeiweifs, Hühnereiweifs) zu zersetzen, und zwar unter Bildung eines üblen Geruches. Ich sprach schon damals die Vermutung aus, dafs von den vielen gefundenen Mikroorganismen dieser letzte Bazillus derjenige gewesen sei, welcher die Gasbildung im Abszefs hervorgerufen hat. Allein ich konnte damals bei kleinen Tieren weder durch Einimpfung des Eiters noch durch Einimpfung der einzelnen Mikroorganismen in Reinkulturen eiuen Gasabszefs verursachen. In dieser Beziehung versagte auch der zuletzt erwähnte Bazillus vollständig. Mit grofser Verwunderung mufste ich dann von Herrn Dr. Fritz Passini-Wien vernehmen, dafs dieser Bazillus, den er sich von mir erbeten hatte, bei einem Meerschweinchen einen Gasabszefs hervorgerufen habe. Ich ersuchte den Genannten, die Versuche fortzusetzen und mir darüber zu berichten. Er hatte die Freundlichkeit, mir nach Verlauf einiger Zeit mitzuteilen, dafs keine weiteren Gasabszesse mehr zu erzielen gewesen seien. Er schrieb mir aber ferner, dafs das geimpfte Meerschweinchen ein ganz junges Tier gewesen. Wie man auch aus den neueren Studien von Achalme ersehen kann, sind die abweichenden Resultate, die mit diesem Bazillus erhalten wurden, auf das verschiedene Alter zurückzuführen, indem jüngere Tiere das antitriptische Vermögen in geringerem Grade besitzen als ältere Individuen. Dafs es sich bei diesem Bazillus um den fäulniserregenden Buttersäurebazillus (Bacillus putrificus Bienstock) handelte, wurde durch die im Hygiene-Institut Wien von Passini angestellten Untersuchungen aufser Zweifel gesetzt.

Übrigens ist der Bacillus putrificus unter den Mundanaërobien nicht der einzige Vertreter der Gruppe der Buttersäurebazillen, da auch der anaërobe Bacillus butyricus immobilis liquefaciens



sich vorfindet. Es ist also sehr wahrscheinlich, dafs auch die pathogenen Varietäten des letzteren, der gasphlegmone Bazillus und der Rauschbrandbazillus, nicht besonders selten vorhanden sind. Auf alle Fälle ist festgestellt worden, dafs in der kranken Zahnpulpa unter anderen Anaërobienarten Vertreter der Gruppe der anaëroben Buttersäurebazillen anzutreffen sind.

Im Jahre 1892 schrieb Miller: »Eine Bearbeitung und Klassifikation der Bakterien der kranken Zahnpulpa liegt bis jetzt nicht vor.« Dieses Wort hat auch heute noch Geltung und man kann noch hinzufügen, dafs die bis jetzt angewandte Technik keine besseren Resultate gegen damals erzielt hat. Durch dieselbe waren sowohl Miller wie die späteren Forscher zu einem Schlufs gekommen, den die folgenden Worte Millers wiedergeben: »Es kann daher leicht vorkommen, dafs eine verfaulte Pulpa kein einziges entwicklungsfähiges Bakterium mehr enthält. Bei 17 nekrotischen Zahnpulpen, die ich daraufhin untersuchte, fand ich 7 ohne lebende Bakterien.« Miller wiederholte dann seine Versuche und bei 18 Pulpen fand er wieder 3, bei denen ein Wachstum auf Agar-agar nicht zu erzielen war; er erklärte sich diese negativen Resultate damit, dafs (die geschlossene Pulpahöhle vorausgesetzt) der ganze Vorrat von Nährmaterial in der Pulpa bald verbraucht werde und die Bakterien dann wegen Mangels an Nahrung zugrunde gehen oder durch ihre eigenen Produkte abgetötet werden. In welchen Fällen diese Ursache zugetroffen hat, will ich dahingestellt lassen. Ich habe aber, wie schon (in einer vorläufigen Mitteilung) erwähnt, an kranken und verfaulten Pulpen regelmäfsig Anaërobien gefunden, und dafs Miller mit seiner Annahme nicht auf der richtigen Fährte sei, hätte er aus folgenden, von ihm selbst gemachten Erwägungen ableiten können: »Dafs die Zahnpulpa die Bedingungen für Sporenbildung in bester Weise darbietet, wurde schon betont, und da die Sporen eine grofse Widerstandsfähigkeit besitzen, so ist durch diesen Umstand die antiseptische Behandlung von Wurzelkanälen möglicherweise erheblich erschwert.« Miller liefs sich, indem er diese Wahrheit anerkannte, mehr von theoretischer Voraussetzung über Sporenbildung und vom Umstande

der schweren Antisepsis der Wurzelkanäle leiten, ohne dagegen angeben zu können, welches die Sporen seien, die er vermutete.

Durch meine Untersuchungen ist jetzt dargetan worden, dafs diese Sporen gröfstenteils aus Anaërobien der Buttersäurebazillengruppe bestehen. Die Widerstandskraft einiger dieser Sporen ist bekanntlich sehr grofs, ein Umstand, welcher mich zur Annahme veranlassen möchte, dafs auch bei den Untersuchungen von Miller die Pulpen nicht steril waren. Miller hat aber bei seinen Untersuchungen eine interessante Beobachtung gemacht, nämlich dafs die von ihm studierten Pulpen schwarz und übelriechend waren. Wie ich schon andernorts bemerkt habe, ist diese Schwarzfärbung hauptsächlich dem fäulniserregenden Buttersäurebazillus zuzuschreiben, obwohl ich damit nicht ausgeschlossen haben wollte, dafs auch andere Bakterien, wie z. B. der Bacillus fuscans, sowie andere Aërobien und Anaërobien dabei beteiligt sein können. Der üble Geruch der Pulpen kann nicht befremden, wenn man erwägt, dafs es sich hier um einen wahren Fäulnisprozefs handelt, bei welchem bekanntlich übelriechende, meist gasige Produkte, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Methan etc., entstehen. Die Zahnpulpa besteht vorwiegend aus Eiweifssubstanzen, die exquisit fäulnisfähig sind. Bei der Fäulnis dieser Substanzen sind, wie schon von Pasteur angenommen und dann von vielen Forschern dargetan wurde, notwendigerweise Anaërobien tätig. Dieselben entfalten ihre Wirkung sowohl bei Luftabschlufs wie auch bei Luftzutritt. In letzterem Falle ist die Symbiose mit Aërobienbakterien nötig. Im Grunde genommen sind in beiden Fällen die sich bildenden Produkte ungefähr gleich. Wenn aber eine Zahnpulpa im geschlossenen Wurzelkanal fault, so bildet sich eine grofse Menge übelriechenden Gases, so dafs, wenn die Pulpahöhle geöffnet wird, die ganze Umgebung, ja sogar das ganze Zimmer mit Gestank erfüllt wird. Wenn dagegen die Zahnpulpa unter Luftzutritt zum Faulen kommt, dann wird der Geruch nur ein sehr geringer sein, obwohl die Bakterien, welche sich bei diesem Prozefs beteiligt haben, fast die gleichen sind und die von ihnen hervorgerufenen Veränderungen sich kaum unterscheiden lassen. Im

ersteren Falle bilden die Anaërobien, welche fast in Reinkultur sind, reichlichere und stärkere Fäulnisprodukte. Im zweiten Falle werden die von den Anaërobien gebildeten Produkte vom Luftsauerstoff weiter zerlegt und oxydiert und machen sich deshalb weniger bemerkbar. In diesem zweiten Falle, wo die Pulpahöhle weit geöffnet ist, wird vom Munde aus immer neues Material zugeführt. Es bilden sich dann Gärungsprozesse verschiedener Art, nicht nur auf Kosten der Zahnpulpa, sondern auch der Speisereste, welche sozusagen die Pulpahöhle obstruieren. Werden diese in Gärung sich befindenden Speisereste auf Anaërobien untersucht, so findet man deren in grofser Menge. Aus diesem Umstande kann man auch schliefsen, welch schlechten Einflufs diese faulenden Zahnpulpen für die Physiologie der Verdauung haben. Es sind Millionen von kontinuierlich in den Magen gelangenden Mikroorganismen, welche imstande sind, abnorme Gärungsprozesse hervorzurufen.

Die Autoren, welche sich mit den Gärungserregern des Mundes am eingehendsten befafst haben, sind Vignal und Miller. Diese haben die Wirkung von verschiedenen Arten sowohl auf Kohlehydrate wie auf Eiweifssubstanzen untersucht. Bekanntlich hat Miller nachgewiesen, dafs in der Mundhöhle mehrere Bakterien vorkommen, welche die Fähigkeit besitzen, aus Zucker Milchsäure zu bilden. Früher glaubte man, dafs es ein bestimmtes Bakterium gebe, das allein die Milchsäuregärung bewirken könne. Die von Miller betreffs der Milchsäure beobachtete Tatsache wurde nachher nicht nur für diese Gärung sondern auch für verschiedene andere als richtig erwiesen; so z. B. liefert uns die Buttersäuregärung das interessante Beispiel, dafs Mikroorganismen, welche Buttersäure als Hauptprodukt bilden sollten, manchmal dagegen fast ausschliefslich Milchsäure liefern. Was die Buttersäuregärung anbelangt, so findet man gewöhnlich in den meisten Lehrbüchern der Zahnheilkunde, dafs im Munde die Buttersäure sich sehr regelmäfsig bilde. Miller behauptet dagegen, dafs im Munde weder das spezifische Bakterium der Buttersäuregärung existiere, noch Spuren von dieser Säure daselbst nachgewiesen werden könnten. Der anaërobe

Bacillus butyricus wurde trotzdem einmal von Rasmussen in der Mundhöhle nachgewiesen. Da dieser Befund aber später von keinem anderen Autor bestätigt wurde, so nahm man an, daſs im Munde keine Anaërobien vorhanden wären, und dies hauptsächlich aus der Erwägung, daſs der dort zur Wirkung kommende Sauerstoff die Entwicklung anaërober Bazillen verhindert hätte. Auch nachdem durch einige Forscher der Beweis erbracht worden war, daſs Anaërobien in Symbiose mit Aërobien bei Luftzutritt wachsen können, machte die Frage keine Fortschritte. Ob andere Arten der doch ziemlich verbreiteten buttersäurebildenden Bakterien, unter denen bekanntlich auch Aërobien beschrieben wurden, in der Mundhöhle vorkommen und dort ihre Gärwirkung entfalten, ist unbekannt. Die Möglichkeit ist durchaus nicht auszuschlieſsen.

Zu der von uns beobachteten Tatsache, daſs sich im Munde regelmäſsig Anaërobien befinden, steht auch ein Experiment im Gegensatz, das von Miller mit Hilfe des Herrn Prof. Kossel gemacht wurde. Miller wollte damit keineswegs die Frage der Möglichkeit des Vorhandenseins anaërober Bakterien lösen, da er ja schon für sicher annahm, daſs solche sich nicht vorfänden, sondern die andere Frage beantworten: »Braucht das Bakterium bei seinen eigentlichen Lebensvorgängen Sauerstoff? Würde es in einem nicht gärungsfähigen Medium Spuren von Sauerstoff nötig haben? Der Versuch wurde folgendermaſsen angestellt: »Ein sehr langhalsiges Glaskölbchen, welches am unteren Teile des Halses ein Thermometer trug, wurde mit 100 ccm einer infizierten Fleischextrakt-Zucker-Lösung gefüllt, der Hals in einen rechten Winkel umgebogen und mittels eines sehr dickwandigen Gummischlauches mit der Luftpumpe in Verbindung gesetzt. Um den Schlauch sicher luftdicht zu machen, wurde er mit Lack überzogen. Es wurde jetzt so viel Luft aus dem Kölbchen gesaugt, daſs die Lösung bei etwa 37,5° C. kochte. Das Kochen wurde eine halbe Stunde fortgesetzt, wonach der Schlauch zugequetscht, unter Quecksilber von der Luftpumpe getrennt und der Apparat unter normaler Temperatur in den Brutofen gestellt wurde.

Nach 48 Stunden war keine Spur von Säurebildung noch von Trübung wahrzunehmen, während die Kontrollösung schon nach 8 Stunden in heftige Gärung geriet.

Es wurde nun Luftzutritt gestattet, aber trotzdem fand selbst nach ferneren 48 Stunden keine Entwicklung von Säure statt. Die Bakterien waren zugrunde gegangen. Leider läfst sich die Frage hiedurch doch noch nicht entscheiden, da es möglich, obwohl nicht wahrscheinlich ist, dafs die Bakterien durch die Kochwirkung getötet wurden.«

So befremdend dieses Resultat auch sein mag, für das man keine plausible Erklärung finden kann, so ist heutzutage von vielen Forschern, wie Nencki, Lackewicz, Beijerinck und Kabrehl, mit gröfster Sicherheit nachgewiesen worden, dafs Anaërobien auch dort sich entwickeln können, wo der Sauerstoff auch mit den empfindlichsten Reagenzien nicht nachgewiesen werden kann, wo z. B. Ferroferrecyanüre und reduziertes Hämoglobin unverändert bleibt, wo reduziertes Indigoblau und Methylenblau (sogar bei Anwesenheit des Reduktionsmittels in Überschufs) keine Spur von Reoxydation erkennen läfst, wo endlich obligat aërobe Mikroben nach wenig Zellteilungen zugrunde gehen. Somit ist die von Miller aufgeworfene Frage beantwortet, da im Munde immer Anaërobien vorhanden sind und dieselben auch ohne Spur von Sauerstoff leben können.

Die Mehrzahl der Mundbakterien, sowohl Aërobien wie Anaërobien, vergären die Kohlehydrate; sie sind nicht nur die Ursache der Milchsäure- und Buttersäuregärung, sondern haben auch eine invertierende und diastatische Wirkung. Diese Eigenschaften sind den Aërobien und Anaërobien gemeinsam; eine beinahe ausschliefsliche Wirkung üben aber die letzteren hinsichtlich der Zersetzung der Eiweifssubstanzen aus. Hier ist das eigentliche Arbeitsfeld dieser Lebewesen, welche also als die wichtigsten Mikroorganismen der Pulpenerkrankungen anzusehen sind. Während die Aërobienbakterien allein nicht imstande wären, eine vollstäudige Vernichtung der Zahnpulpa hervorzurufen, tun die Anaërobienbakterien nicht nur das, sondern zerstören auch die übrigen Komponenten der Zähne.

Welches sind nun die wichtigsten Anaërobien, welche diesen Zerstörungsprozefs herbeiführen? Es sind Fäulnisanaërobien, die von Achalme unter die gemeinschaftliche Bezeichnung von Anaërobien triptobutyrici gefafst worden sind. Die Fäulnis wurde übrigens schon im Jahre 1756 von Pfaff als Ursache der Zahnkaries angesehen. »Speisereste,« erklärt er, »welche zwischen den Zähnen in Fäulnis übergehen, geben zur Fäulnis der Zähne Veranlassung.« Auch heutzutage wird die Zahnkaries von vielen Zahnfäule genannt und als ein wahrer Fäulnisprozefs betrachtet.

Die Gegner dieser Theorie und hauptsächlich Miller glauben dieselbe mit der Einwendung zu widerlegen, dafs ein Zahn aufserhalb der Mundhöhle nie faule. Dies ist aber nicht der Fall, da unter entsprechenden Bedingungen Zähne auch aufserhalb des Mundes verfaulen, wie wir im folgenden sehen werden.

Die anaëroben Mundbakterien.

Bevor ich von den Wirkungen, welche die anaëroben Bakterien sowohl auf die Zähne wie auch auf die Bestandteile der Mundhöhle ausüben, spreche, halte ich es für zweckmäfsig, über einige der am häufigsten im Munde vorkommenden anaëroben Arten zu berichten, wie auch die Technik anzuführen, die ich bei meinen Untersuchungen zur Anwendung gebracht habe.

a) Der Mund wurde mit 20 ccm sterilen Wassers gespült. Von dieser Ausspülung wurden 4 ccm in Grubersche Röhrchen getan, die eine 2proz. Lösung von kohlensaurem Kalk und einige Eiereiweifswürfel (im Autoklav sterilisiert!) enthielten. — Nach dieser Methode wurden zehn Versuche gemacht.

b) Mit einem Platinspatel wurde von in ziemlich gutem Zustande befindlichen Zähnen und aus den Zwischenräumen derselben möglichst viel Material abgekratzt und in alkalische (5proz. Natronlauge) Lösung gut verteilt. Von dieser Flüssigkeit wurden sodann 5 ccm in Grubersche Röhrchen mit sterilisiertem Eiereiweifs gebracht. Die Zahl der Versuche belief sich auch hier auf zehn.

c) Anstatt der alkalischen Natronlaugelösung wurde in zehn weiteren Versuchen eine Mischung von 2% kohlensaurem Kalk, 2% Natronlauge und 1% Traubenzucker und an Stelle des Eiereiweifses Rinderblutserum verwendet.

Bei diesen Versuchen wurde häufig, und zwar bei den letzteren schon nach 4—6 stündigem Aufenthalt bei 37°, deutliche Gasbildung wahrgenommen, die manchmal 6—8 Tage andauerte.

Beim Schütteln des Röhrchens entwickelten sich auch, nach 4—6 monatlichem Aufenthalt im Brutschrank, aus dem Boden zahlreiche kleine Luftblasen. Diese Erscheinung liefs sich indes nicht in allen Fällen beobachten.

Die Veränderungen, welche das Eiereiweifs erlitten hatte, waren sehr verschieden. Einigemal hatte das Eiereiweifs nach mehrwöchigem Stehen im Brutschrank ein gallertartiges Aussehen. Dasselbe Röhrchen, noch weitere 2—3 Monate bei 22° aufbewahrt, zeigte das Eiweifs vollständig verflüssigt. Das Gerinnsel war von weifsgelber Farbe und wies spärlichen staubigen Bodensatz auf. In den Fällen, wo sich der Bacillus putrificus sehr üppig entwickelt hatte, war dieser Bodensatz schön schwarz.

Noch verschiedenartiger war das Aussehen der Röhrchen mit Rinderblutserum, das in den Gruberschen Röhrchen sowohl in Würfeln als in toto zur Gerinnung kam. Interessant war die Tatsache, dafs in zwei Fällen die kleinen Würfel von Blutserum, nachdem die Röhrchen 4 Wochen lang im Brutschrank aufbewahrt worden waren, an verschiedenen Stellen kleine schwarze Punkte zeigten, die mit der Zeit stecknadelkopfgrofs wurden. In der Folge trat die Verflüssigung des Serums ein, die in keinem Falle ausblieb.

Was den Geruch der Kulturen betrifft, so war derselbe nicht immer ein schlechter. Bemerkenswert scheint es mir, dafs die Kulturen, bei welchen das Eiereiweifs bzw. das Serum vollständig verflüssigt war und wie eine klare Flüssigkeit aussah, wider mein Erwarten einen schwachen süfsen Geruch aufwiesen, der gar nichts Widerwärtiges hatte. Es wickeln sich wahrscheinlich auch hier in vitro dieselben Prozesse ab wie in Abfalls-

gruben usw. Im allgemeinen waren aber meine Kulturen mit sehr üblem Geruch behaftet.

Die Kulturen in den Gruberschen Röhrchen wurden, wie bereits erwähnt, nach einem Zeitraum von 1—12 Monaten geöffnet; die meisten wurden jedoch im zweiten oder dritten Monat untersucht. Vor der Verpflanzung in andere anaërobische Substrate stellte ich mikroskopische Präparate her, die regelmäfsig das Vorhandensein von dicken, plumpen Bazillen, von Formen mit zentralen Sporen oder solchen in Trommelschlägergestalt, von isolierten Sporen in grofser Menge, von einigen nicht genau gekennzeichneten bazillaren Formen und überdies von isolierten, zu zweien oder kettenförmig angeordneten Kokken dartaten. Bisweilen zeigten sich ferner in geradezu bedeutender Anzahl dünne, schlanke Bazillen mit zugespitztem Ende und einer gewissen Verdickung in der Mitte. Auch hinsichtlich ihres Verhaltens gegen die Anilinfarben riefen diese Bazillen den Eindruck der Ähnlichkeit mit den unter dem Namen »bacilles fusiformes« bekannten hervor. Wir werden später darauf zurückkommen.

Mittels der Pasteurisierung des Materials konnte ich jedesmal die Bazillen der Buttersäuregruppe isolieren. Ich will hier vor allem die Arten beschreiben, die für unsere Untersuchung von gröfserem Interesse sind.

Bacillus putrificus (Bienstock). Dieser Bazillus findet sich in Unmenge im schlecht gereinigten Munde, in den Zwischenräumen der mit Zahnstein überzogenen Zähne sowie in den Speiseresten, die sich in den Winkeln der Mundhöhle festsetzen. Bei der Pulpitis, insbesondere der chronischen, scheint er gleichsam allein das Feld zu beherrschen, das er mit unzähligen kleinen runden Sporen bedeckt. Bei der einfachen Karies findet er sich ebenfalls verhältnismäfsig reichlich vor und erreicht hier seine längste, eine beinahe fadenförmige Gestalt, während sich bei der chronischen Karies mit tiefgehender Gewebezerstörung auch die kleinen Formen ziemlich häufig beobachten lassen. Plumpe, keulenartige Formen (»Trommelschlägerformen«) oder solche von Clostridium dagegen zeigen sich in Menge in Präparaten von chronischer Pulpitis, die aber nicht zu weit zurückdatieren darf.

Die Vielgestaltigkeit dieses Mikroorganismus veranlaſst uns zu einer etwas eingehenderen Schilderung desselben, um ihn in den verschiedenen Erscheinungen, unter denen er sich in den histologischen Präparaten darbietet, erkennen zu können.

Der Bacillus putrificus ist meistenteils ein Stäbchen von 5—8 μ Länge, 0,6—0,8 μ Breite und abgerundeten Enden, der sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben und der Gramschen Methode gut färbt. Er hat eine sehr starke Neigung zur Sporenbildung, doch sind seine Sporen nicht immer einander gleich, noch auch in jedem Fall mit Rücksicht auf den Bazillus gleichmäſsig angeordnet. Bisweilen findet sich die Spore an einem Ende des Bazillus in einer Weise, die ihm ein dem Tetanusbazillus ziemlich ähnliches Aussehen verleiht. Die Spore ist aber im allgemeinen eiförmig anstatt rund, wie sie beim Bazillus von Nicolaier beschrieben wird. Diese Endspore färbt sich in einzelnen Fällen ganz leicht, in toto, und zwar intensiv, mit den gewöhnlichen Anilinfarben ohne irgendwelches besonderes Verfahren. Es genügt, ½ Minute lang beispielsweise Fuchsin Ziehl kalt auf dem Präparat zu belassen, um eine prächtige Färbung der Sporen zu erzielen. In anderen Fällen dagegen läſst sich trotz gleichen Vorgehens nur eine Färbung des äuſseren Hofes wahrnehmen, auch ist es häufig vorgekommen, daſs die Spore vollständig ungefärbt blieb und sich am Ende des Stäbchens als runder, stark lichtbrechender Punkt zeigte.

Die Spore befindet sich jedoch nicht immer am Ende, sie kann ihren Platz auch in der Mitte des Stäbchens haben, das dann eine gewisse Schwellung aufweist, ohne aber das Aussehen eines wahren und eigentlichen Clostridiums anzunehmen. Dieser Umstand war bereits von Bienstock beobachtet worden. Während aber Tissier in seiner Beschreibung des Bacillus putrificus hievon keine Erwähnung tut, scheut sich Gottlieb Salus nicht vor der Annahme, Bienstock habe mit unreinen Kulturen operiert, da ihm selbst diese abweichende Anordnung der Spore am Bazillus nie vorgekommen sei.

Die vom Bacillus putrificus herrührenden freien Sporen sind geradezu in Unmasse anzutreffen und es ist bemerkenswert, daſs

sie bisweilen eine verschwindend kleine und vollkommen runde Gestalt aufweisen. Der Bacillus putrificus von jungen Kulturen besitzt in der Flüssigkeit Eigenbewegung; hat er seine tetanusähnliche Gestalt, so strebt er mit der Spore vorwärts.

In albuminarmen Böden ist er mehr gewunden, wie auch gefaltet und faserig.

Es ist nunmehr allgemein anerkannt, dafs der Bacillus putrificus ein strenges Anaërobium ist, das sowohl bei Zimmertemperatur wie bei 37° gut zur Entwicklung kommt. Es ist indes angezeigt, zu bemerken, dafs dasselbe hinsichtlich der Temperatur zu den weniger anspruchsvollen Bakterien zählt, da sich auch noch bei 44° ein ziemlich gutes Wachstum erzielen läfst, und dafs anderseits seine Anforderungen für Anaërobiose nicht so hoch sind wie bei anderen Anaërobien.

Die hervorragendsten kulturellen Merkmale ergeben sich aus folgenden Kulturen:

Agarstich. — Das Wachstum erfolgt binnen 2—4 Tagen flöteubürstenförmig. Die einzelnen Kolonien sind am Rande des dicken Stiches an ihrem watteähnlichen Aussehen zu erkennen.

Diese Kultur gibt bereits ein gutes Unterscheidungsmerkmal gegenüber anderen Kulturen, die als Putrificusarten gelten. Mein Anaërobion III, das nach Tissiers Ansicht der Putrificus Bienstock sein soll, bildet in der Stichkultur die Figur eines Tannenbaumes; die längsten Aste desselben können sich bis zu den Wänden des Röhrchens erstrecken.

Wenn im flüssig geimpften und nachher erstarrten Agar nur einige Kolonien zur Entwicklung kommen, so können sie die Gröfse einer Erbse erreichen und die schönen geschlängelten Ausläufer sind dann bei ihnen am besten zu erkennen.

Agarstrich. — Die Kultur zeigt ein farnkrautähnliches Aussehen.

Gelatinestich. — In Gelatine erscheinen die Kolonien wie Haarwuchs. Das Material wird allmählich weich und verflüssigt sich binnen 5—6 Tagen. Das watteähnliche Aussehen der Kolonien tritt indes nicht immer zutage. Manchmal zeigen sich

die Kolonien als dunkle Punkte, die von trüben runden Höfen verflüssigter Gelatine umgeben sind. Diese Erscheinung tritt hauptsächlich bei gut peptonisierenden Stämmen auf, wo infolge der raschen Verflüssigung keine Bildung von Ausläufern stattfindet.

Ein gutes Unterscheidungsmerkmal für den Bazillus putrificus ist ferner die schwarze Färbung, welche in dem von Passini vorgeschlagenen Eiereiweifsnährboden sehr deutlich hervortritt.

Ist der Bacillus putrificus für die gewöhnlichen Laboratoriumstiere pathogen oder nicht?

Bienstock, Tissier, Schattenfroh und Grasberger u. a. geben an, dafs er nicht pathogen sei. Ich fand indes wiederholt, sowohl bei meinen früheren Untersuchungen über Darmanaërobien wie bei den vorliegenden, Putrificusarten, die eine gewisse Pathogenität aufwiesen. Eine Putrificusart vermochte, in Quantitäten von 3 ccm Meerschweinchen unter die Haut eingeimpft, den Tod dieser Tiere hervorzurufen. Weiter oben habe ich einen Fall von Gasabszefs angeführt, für den ich einen Bacillus putrificus verantwortlich machen konnte. Derselbe war, wie dort erwähnt, bei meinen Untersuchungen wirkungslos geblieben, hat aber bei einem von Passini geimpften Meerschweinchen einen Gasabszefs zur Folge gehabt.

Auf die grofsen Schwankungen in der Virulenz der Anaërobien macht übrigens schon Achalme aufmerksam, welcher schreibt:

»Weist das beobachtete Mikrobium eine sich nahezu gleichbleibende Virulenz auf, so hat man in der pathogenen Wirkung, mag ihr Wert auch noch so relativ sein, einen wertvollen Stützpunkt. Wenn dagegen die Virulenz gleich Null oder schwankend ist, wie man dies vielfach in bedeutendem Mafse, und zwar unter schwer definierbaren Umständen, wahrnehmen kann, so mufs die pathogene Wirkung notwendigerweise an die zweite Stelle zurücktreten.«

Aufser diesen Pathogenitätsschwankungen, die den meisten Mikroorganismen eigen sind, kommt für den in Rede stehenden

Bazillus auch noch die Tatsache in Betracht, dafs seine morphologischen und biologischen Eigenschaften ebenfalls grofsen Änderungen unterliegen. Ich konnte mich bei meinen Untersuchungen über die Anaërobien des Darms, der Milch und der Mundhöhle tatsächlich überzeugen, dafs, während einige Putrificusarten das Eiweifs rasch und intensiv aufbrauchen, andere hinwiederum dasselbe nur wenig und langsam verändern. Es scheint mir daher, dafs wir unter der Bezeichnung Bacillus putrificus Bienstock heutzutage nicht mehr eine einzige Art, sondern eine ganze Familie mit vielen Varietäten (darunter auch einige pathogene) zu verstehen haben.

Die gleiche Verbreitung wie der Bacillus putrificus Bienstock hat in der menschlichen Mundhöhle der unbewegliche Buttersäurebazillus (von Schattenfroh und Grasberger Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens genannt).

Wir haben es hier mit dem Trait-d'union zwischen den zwei äufsersten Vertretern der Gruppe der anaëroben Buttersäurebazillen zu tun, wovon einige Varietäten nur ganz geringe Fähigkeit besitzen, die Gelatine zu peptonisieren, während andere mit starkem Vermögen zur Zerlegung der Eiweifssubstanzen ausgestattet sind, so dafs sie in dieser Hinsicht mit dem Bacillus putrificus Bienstock verwechselt werden können. Sie unterscheiden sich jedoch hievon durch die verhältnismäfsig schwierige Sporenbildung, die sich dagegen beim Bacillus putrificus mit gröfster Leichtigkeit einstellt. Auch die Gestalt der Sporen wie deren Gröfse leistet zur differentiellen Diagnose gute Dienste. Einzelne morphologische Kennzeichen, wie seine Unbeweglichkeit usw., erleichtern diese Aufgabe.

Agarstrich. — Im Rasen entwickelt sich eine weifsliche Schicht, mehr oder weniger dick je nach der Masse des Säematerials. Die isolierten Kolonien weisen einen runden oder länglichrunden Mittelpunkt auf, während die Umgebung dieses mittleren Teils granuliert erscheint.

Agarstich. — Gleichmäfsig dicker oder leicht höckerig begrenzter Faden, manchmal von Gasblasen durchsetzt.

Gelatinestich. — Nach 2—6 Tagen weifser Faden oder eine kleine Kette von ebenso unregelmäfsigen rundlichen Punkten, welche bei weiterem Wachstum die Gelatine trichterförmig verflüssigen.

Kartoffelscheiben. — Auf Kartoffeln bildet der Bazillus einen kaum sichtbaren Rasen. Bei manchen Varietäten sind einige Kolonien kuppenförmig erhaben, was auch bei vielen Putrificusstämmen beobachtet wird.

Sporenbildung. — Die freien Sporen sind oval, bis 2,0 μ breit und bis 2,3 μ lang. Ihre Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen ist eine aufserordentlich hohe.

Eine weitere interessante Varietät, welche häufig von der Mundhöhle beherbergt wird und die ich mit dem von Tissier und Martelly unter dem Namen Bacillus bifermentans sporogenes beschriebenen Mikroorganismus, der wegen der Gestalt seiner Sporen charakteristisch ist, identifizieren zu dürfen glaubte, ist die folgende.

Der Bazillus hat eine Länge von 6—8 μ, eine Breite von ungefähr 1 μ und ist vielfach in Ketten von mehreren Individuen angeordnet. Er bildet sehr rasch Sporen, die sich von denen der zwei vorhergehenden Arten durch ihre ellipsoide Gestalt unterscheiden. Ich konnte aus dem Munde tatsächlich Bazillen isolieren, die in zuckerfreien Böden in der Mitte des Bazillus längliche Sporen von bisweilen 3—3,5 μ Länge bildeten. Wenn ich bei Vornahme der für die Sporen spezifischen Färbung den Grund mit Methylenblau färbte, so wies die Spore im Mittelpunkte des Bazillus roten Schleim auf; der Bazillus selbst lief fast gar nicht blau an.

Morphologisch und kulturell hat dieser Bazillus eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Bacillus putrificus. Die Kolonien werden indes nie fadenförmig, strahlenförmig oder watteähnlich wie beim Bacillus putrificus. Sie sind kompakt und linsenförmig. Die Gasbildung ist nicht reichlicher als beim Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens und tritt erst spät auf. Die Verflüssigung der Gelatine geht langsam vor sich. Dieser Bazillus greift Kasein, Serum- und Eiereiweifs an, jedoch nicht in so

hohem Mafse wie der Bacillus putrificus. Meine mangelhaften Kenntnisse in der Chemie und in den chemischen Untersuchungsmethoden erlauben mir nicht, von einer sicheren Identifizierung dieses im Munde häufig vorkommenden Mikroorganismus mit dem Bacillus bifermentans sporogenes zu sprechen. Ich kann nur mit Bestimmtheit angeben, dafs der Bazillus aus Glykose Buttersäure bildet.

Während diese drei Saprophyten als regelmäfsige Bewohner der Mundhöhle anzusehen sind, ist ein anderer Vertreter der Buttersäuregruppe seltener anzutreffen, mufs aber wegen seiner grofsen pathologischen Bedeutung wohl in Betracht gezogen werden. In drei Fällen von lakunärer Angina konnte ich mittels Tierversuch den typischen gasphlegmonen Bazillus isolieren. Ich will diesen Befund nicht gerade mit der Ätiologie der Angina, die übrigens einen gutartigen Verlauf nahm, in Zusammenhang bringen. Es scheinen mir aber diese Fälle schon deshalb von Bedeutung, weil wir mit der näheren Kenntnis der anaëroben Mundflora die Entstehungsursache mancher infektiösen Prozesse mit unbekanntem Eintrittsort des pathogenen Erregers besser erklären werden.

Ich unterlasse hier eine Beschreibung des gasphlegmonen Bazillus, da sich eine solche im schönen Werk von Schattenfroh und Grasberger findet, die auf meine drei Stämme genau pafst. Ich konnte mich überzeugen, dafs der gasphlegmone Bazillus, auf den von Passini vorgeschlagenen Nährboden übergeimpft, tatsächlich ein sporenbildender Mikroorganismus ist.

Weniger Glück hatte ich bei meinen Untersuchungen mit dem Nachweis des Tetanusbazillus im Munde. Sämtliche Versuche fielen negativ aus; trotzdem halte ich für sicher, dafs auch dieser Mikroorganismus häufig in der Mundhöhle haust.

Es sind in der Literatur genügend Fälle von echtem Tetanus bekannt, bei denen der spezifische Bazillus sich nicht nachweisen liefs, und nicht minder kennt man die Schwierigkeiten, welchen der Bakteriologe hauptsächlich begegnet, wenn es sich um eine Mischinfektion von Tetanus mit anderen anaëroben Mikroorganismen handelt. Auf alle Fälle gebe ich diese interessante Auf-

gabe noch nicht auf und hoffe, im Laufe meiner diesbezüglichen Untersuchungen für die oben ausgesprochene Vermutung den Beweis liefern zu können.

Die eben beschriebene Bakteriengruppe hat überaus grofse Bedeutung für die Zahnkaries wegen der Bildung von Säuren wie auch von Diastasen, so z. B. der Trypsin, die eine vollständige Zerstörung des Zahnes herbeizuführen vermag, wie ich mich bei meinen Untersuchungen über künstliche Zahnkaries auf das festeste überzeugen konnte. Dagegen ist die Bedeutung der genannten Bakterien für gewisse Formen von Angina noch von niemand zum Gegenstand des Studiums gemacht worden, ja, soviel ich weifs, hat noch kein Forscher ihr Vorkommen in ähnlichen krankhaften Zuständen überhaupt erwähnt. Während meiner Tätigkeit als Assistent am Hygiene-Institut Zürich fand ich diese Köpfchenformen wiederholt in direkten Präparaten in ansehnlicher Menge vor; da mir aber damals das Studium der klinischen Fälle nicht möglich war, so beschränkte ich mich auf die Angabe, ob das Ergebnis der Untersuchung in bezug auf den Diphtheritisbazillus ein positives oder negatives gewesen war.

Dagegen hatte ich bei meinen Untersuchungen in Padua Gelegenheit, auch den Kranken zu sehen, und nicht selten hob ich das Material selbst ab. Ich zählte nun über acht Fälle von akuter Pharyngitis, bei denen ich unter dem Mikroskop eine Unmenge von Köpfchenbakterienformen beobachten konnte. Ich erwähne hiervon noch besonders den folgenden ausgezeichneten Fall: Der Feuerwehrmann Albertini Carlo erschien beim hiesigen Amt mit einer ausgesprochenen Form von Angina, von der vornehmlich die beiden Mandeln betroffen waren. Die Rötung derselben sowie des ganzen Pharynx hatte einen hohen Grad erreicht; aufserdem liefs sich besonders an den Mandeln ein schmutziggraues Exsudat wahrnehmen.

Einige mit diesem Exsudat hergestellte mikroskopische Präparate gaben, mit Gentianaviolett gefärbt, die charakteristischen Formen der Köpfchenbakterien in erheblicher Anzahl und fast in Reinkulturen zu erkennen. Die Endspore war bei einzelnen Bazillen vollständig violett, bei andern wies nur der sie um-

gebende Hof die violette Färbung auf, während das übrige vollständig entfärbt war. Bei andern Bazillen wieder ergab sich eine entfärbte lichtbrechende ovale Spore am dünnen, gut gefärbten Bazillus hängend, ferner lagen viele von diesen Sporen, vom Bazillus abgetrennt, da und dort im Präparat zerstreut. Bemerkenswert ist die Tatsache, dafs die mit jenem Material im Serum angelegten aërobischen Kulturen keinerlei Entwicklung aufwiesen. Die anaërobischen Kulturen dagegen förderten den Bacillus putrificus zutage. Was den klinischen Verlauf betrifft, so war derselbe ein äufserst gutartiger. Bei täglich zweimal vorgenommenen Überpinselungen mit Quecksilbersublimat zu 1 ⁰⁰/₀₀ war die Angina in 3 Tagen gänzlich verschwunden.

Wie ist es nun möglich, dafs diese Anaërobien bei Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffes existieren? Die Symbiose mit aërobischen Mikroorganismen reicht in solchen Fällen noch nicht allein zur Erklärung der Tatsache hin, umsoweniger als beim angeführten Falle, auch wenn man eine Reinkultur von Anaërobien nicht als gegeben erachten will, immer nur das Vorkommen von wenigen Aërobien vorausgesetzt werden darf, da die zwei Kulturen in aërobischem Serum steril blieben. Man mufs sich vielmehr zur Annahme verstehen, dafs sich in den kranken Geweben besondere Substanzen entwickeln, die anaërobische Keime auch bei Luftzutritt am Leben zu erhalten vermögen, wie wir das gleiche bei Kulturen mittels entsprechender chemischer Substanzen zu erzielen in der Lage sind.

Das über die Anaërobien der Buttersäure Gesagte trifft auch auf die spindelförmigen Bazillen von Vincent zu, die, wie ich sofort ausführen werde, streng anaërobisch sind und die in einer so grofsen, die anderen Mikroorganismen derart überwiegenden Menge auftreten können, dafs viele Autoren, darunter Plaut[1]), sie als wahre und tatsächliche Reinkultur angesehen haben.

[1]) Es klingt fast paradox: ›Reinkultur aus der Mundhöhle — und doch kommen solche Fälle, freilich recht selten, vor. Bei einer Form von Angina, die ich, nicht Bernheim oder Vincent, wie häufig zitiert, zuerst 1894 beschrieben habe, fand ich in einem Falle auf vielen Kulturmedien

Man mufs demnach zugeben, dafs bei einzelnen pathologischen Zuständen (Angina, Stomatitis, Noma) infolge uns noch unbekannter biochemischer Prozesse eine Veränderung der Gewebe Platz greift, die das Fortkommen der gewöhnlichen Aërobien auf denselben schwierig gestaltet, während sie das der Anaërobien ermöglicht und sogar begünstigt. Unter den letzteren mufs noch einer Gruppe von Bazillen Erwähnung getan werden, die wegen ihrer häufigen Beteiligung bei verschiedenen Krankheitsformen und der grofsen Schwierigkeit, die sie ihrem Studium in Reinkulturen entgegenstellt, in letzter Zeit die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt hat.

Der bekannteste Vertreter dieser Gruppe führt gemeinhin den Namen Bacillus fusiformis von Vincent, weil dieser Autor es ist, den wir die meisten Abhandlungen über dieselbe verdanken, wenngleich Miller die Priorität zufällt, ihn als gewöhnlichen Gast der Mundhöhle beschrieben zu haben. Die Literatur über diesen Mikroorganismus ist in der Folge derart angeschwollen, dafs Beitzke in seiner zusammenfassenden Übersicht in der Lage war, nicht weniger als 113 Autoren anzuführen. Aufserdem sind mir noch die Arbeiten von weiteren 50 (deutschen, französischen und italienischen) Autoren bekannt, die von Beitzke nicht eingereiht werden konnten. Ich halte jedoch für sicher, dafs viele von diesen Forschern Mikroorganismen in Händen hatten, die vom echten spindelförmigen Bazillus gemäfs der J. Seitz-Vincentschen Auffassung abwichen, und dafs unter

---

beim Ausstich keinen einzigen Mikroorganismus entwickelt, weil die Pseudo-
membran nur Spirochäten und sog. Millersche Bazillen enthielt, die sich
auf unseren gebräuchlichen Nährmedien nicht züchten lassen.« Also Plaut!
Wenn sich auch bei mir einigemal der Fall ereignete, dafs sich unter dem
Mikroskop in einem oder in zwei Präparaten nur eine einzige Art von Mikro-
organismen beobachten liefs, so konnte ich mich doch leicht vergewissern,
dafs es sich auch in diesen Fällen nicht um eine wirkliche Reinkultur
handelte. Wir haben es bisweilen tatsächlich mit einer Vereinigung von
verschiedenen Anaërobienarten zu tun, die als solche auf unseren gewöhn-
lichen Nährmedien nicht wachsen; häufiger jedoch handelt es sich um Sym-
biose von Aërobien mit Anaërobien, die in den Geweben schichtweise ange-
ordnet sind, infolgedessen ein Befund, der sich nur auf die obersten Partien
erstreckt, nur eine einzige Spezies zutage fördert.

dem bequemen Vorwand, der Bazillus habe sich noch nicht isolieren lassen, gar oft Mundanaërobien jedem Typ zugerechnet wurden, einzig und allein deshalb, weil auch diese sich auf unseren gewöhnlichen Nährböden (unter diesen wurden stets die aërobischen verstanden) nicht züchten lassen.

Im Jahre 1901 hatte sich Vincent in seiner Arbeit: »Sur la culture et l'inoculation du bacille fusiforme« neuerdings mit seinen Bazillen beschäftigt. Er erprobte eine Anzahl von Nährböden und kam zum Schlusse, dafs die reichlichsten Kulturen sich mit der aus einer chronischen rheumatischen Hydrartrose gewonnenen Flüssigkeit erzielen liefsen. Nach Vincents eigenem Ausdruck jedoch »la culture du bacille fusiforme à l'état pur n'a pas été jusqu'ici réalisée«.

Matzenauer, der die beiden Krankheitsprozesse von Noma und Hospitalbrand ganz richtig miteinander in klinische und ätiologische Verbindung gebracht hatte, behauptete hinwiederum, das spezifische Agens derselben in Reinkultur gewonnen und es anaërobisch in Agar mit hoher Schicht gezüchtet zu haben. Trotzdem haben wir keinen Anlafs, bei den tüchtigen Arbeiten Matzenauers lange zu verweilen, da im Widerspruch zu der Überzeugung des Autors von der Identität seines Bazillus mit dem von Vincent, wie Beitzke mit Recht bemerkt, alles zur Annahme drängt, dafs ein ganz verschiedenes Anaërobium in Frage gestanden habe.

Das gleiche ist meiner Ansicht nach von dem von Veillon und Zuber beschriebenen Bazillus zu halten, wenn auch Beitzke hierin die einzige Angabe einer Reinkultur von spindelförmigen Bazillen erblickt.

Wie jene beiden französischen Autoren berichten, wächst ihr Bacillus fusiformis in strenger Anaërobiose, und zwar bei Zimmertemperatur langsam, rasch dagegen im Thermostat.

In der Gelatine entwickeln sich kleine körnige dunkle Kolonien mit gut ausgeprägtem, glattem Rande. Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein.

Im Agar lassen sich bereits nach 24 Stunden kleine Kolonien beobachten, die hernach dunkel, undurchsichtig werden und mit

der Zeit eine gewisse Gröfse erreicheu können. Die meisten weisen linsenförmige Gestalt auf.

Im schiefen Agar wachsen sie wie Bacterium coli, doch sind sie mehr transparent.

Bouillon wird rasch und stark getrübt; es zeigt sich ein dicker, weifslicher Bodensatz sowie übelriechendes Gas.

Sporenbildung wird nicht beobachtet.

Die Kulturen sind sehr hinfällig und halten sich nur 5 bis 6 Tage lebensfähig; etwas widerstandsfähiger sind die bei Zimmertemperatur gezüchteten.

Die von Veillon und Zuber gegebene Beschreibung des in Frage stehenden Bazillus entspricht in sehr vielen Punkten der meines im Gasabszefs ermittelten Bazillus II.

Der Umstand, dafs beim Bazillus der beiden französischen Autoren die Sporenbildung ausblieb, während der meine sporenbildend war, dürfte kein unüberwindliches Hindernis bilden, da wir wissen, wie schwankend das Auftreten der Sporenbildung ist und wie viele verschiedene Faktoren es beeinflussen.

Wie aus der meiner Arbeit angefügten Tafel ersichtlich ist, hatte auch mein Bazillus II mikroskopisch grofse Ähnlichkeit mit dem spindolförmigen Bazillus von Vincent-Seitz, während der weitere Befund eine ausgesprochene Verschiedenheit ergab.

Im Jahre 1903 veröffentlichte Lewkowicz Ksawcry eine Arbeit, worin er anführt, es sei ihm die Reinzucht des Spindelbazillus mittels anaërobischer Kulturen in gezuckertem Agar unter Hinzufügung von Serummaterial geluugen und dafs er ohne Beifügung des letzteren in keinem Nährboden zur Entwicklung komme.

Leider kenne ich die genannte Arbeit nur aus dem kurzen Referat des Bull. Ann. Pasteur vom 30. Dezember 1903, und es ist überaus schwer, auf Grund desselben ein Urteil zu fällen.

Im allgemeinen darf ich sagen, dafs in der Literatur der Spindelbazillus erwähnt wird, wenn er in mehr oder weniger evidentem Zusammenhang mit den pathologischen Prozessen gebracht werden kann.

Der Ansicht der meisten Autoren, dafs der Spindelbazillus das ätiologische Agens von Krankheitsformen, auch wenig verwandter, sei, war J. Seitz bereits im Jahre 1899 mit der Erklärung entgegengetreten, dafs eine bestimmte Beziehung dieses Gebildes mit einer besonderen Krankheitsgruppe, aufser etwa zu Mundgestank, nicht hervorgetreten sei.

Die allzuengen Begriffe hinsichtlich des Charakters der pathogenen Mikroorganismen, wie sie übrigens auch heutzutage noch bei vielen herrschen, haben es nicht zugelassen, dafs seine Versicherung gewürdigt und geziemend interpretiert wurde. Die scharfe Beobachtungsgabe dieses Forschers hatte aber bereits ein wichtiges Merkmal aufgestellt, um den in Frage stehenden Mikroorganismus von anderen, die man in der Folge mit ihm zusammenwerfen wollte, unterscheiden zu können, nämlich die Gestankbildung.

Aufser als fast beständiger Bewohner unseres Mundes wurde der spindelförmige Bazillus häufig in ziemlich vielen Krankheitsformen verschiedenster Art angetroffen, und nun einmal die Aufmerksamkeit auf ihn gelenkt ist, mehren sich die Fälle seines Vorkommens ins Unermefsliche. Er zählt daher wie der Bacillus putrificus Bienstock und andere Fäulnisanaërobien zu den gewöhnlichsten Saprophyten, nur mit dem einzigen Unterschiede, dafs der Bacillus fusiformis infolge seiner wenig ausgeprägten Färbung (in den Geweben z. B. ist der Nachweis desselben beinahe unmöglich, insbesondere wenn er sich in Begleitschaft von vielen anderen Keimen befindet) sich leicht unserer Nachforschung entzieht.

Seine morphologischen Eigentümlichkeiten sind zu bekannt, um angeführt zu werden. Den am meisten strittigen Punkt dürfte die Bewegungsfähigkeit bilden. Einige Autoren schreiben ihm Eigenbewegung zu, ich für meinen Teil habe ihn unbeweglich gefunden.

Geringere Bedeutung hat die Kontroverse bezüglich seiner Färbefähigkeit nach Gram. Ähnliche Fälle sind für eine Reihe von aërobischen und anaërobischen Bazillen bekannt. Um das auf den vorliegenden Fall passendste Beispiel anzuführen, sei nur auf den Bacillus bifidus von Tissier verwiesen. Tissier hat unter Anwendung der Methode Gram-Escherich in derselben Bifidus-Kultur neben violetten auch rote Formen angetroffen.

Bei mir hat sich der Bacillus fusiformis immer nach Gram entfärbt. Die Autoren, welche angeben, dafs er sich nach dieser Methode nicht abfärbt, fügen indes hinzu, dafs er sich nach dem Verfahren von Claudius entfärbt, was ein Beweis dafür ist, dafs seine Widerstandskraft beim Abgeben der Farbe jedenfalls sehr gering ist.

Leider weist der Bacillus fusiformis auch in Reinkultur einen so grofsen Formenreichtum auf, dafs eine Identifizierung durch die Prüfung seiner morphologischen Eigentümlichkeiten nicht leicht wird. Ferner gibt es sicher auch noch andere Arten, die morphologisch mit dem Bacillus fusiformis ein Ganzes bilden, bei eingehender kultureller und biologischer Untersuchung aber von ihm geschieden werden müssen.

Schon Vincent hatte auf die Veränderlichkeit seines Bazillus aufmerksam gemacht, indem er angab, dafs derselbe sich in der nach der Formel von Martin bereiteten Bouillon vermehre, aber möglicherweise darin unerkenntlich werde; er entwickle sich nämlich zu langen, geradlinigen Fäden, bisweilen von riesiger Ausdehnung. Aus der Bouillon von Martin in die flüssigen organischen Böden versetzt, nehme er den Umfang und das spindelförmige Aussehen an, womit er im Mandelexsudat der Kranken ausgestattet ist.

Ich kann noch hinzufügen, dafs dieser Bazillus sich manchmal mit sehr kurzer Gestalt, ohne Verdickung in der Mitte wie auch ohne zugespitzte Enden vorfindet, sodafs man zur Annahme verführt werden könnte, es handle sich nicht um den Spindelbazillus, während dies trotzdem der Fall ist.

Anderseits beherbergt der Mund auch noch Anaërobien, deren Studium ich noch nicht abgeschlossen habe und die unter dem Mikroskop die gleiche Vielgestaltigkeit wie der Bacillus fusiformis aufweisen, von dem sie übrigens alle die verschiedenen Formen zeigen.[1]) Bei der kulturellen Untersuchung lassen sich jedoch

1) Es sei hier besonders hervorgehoben, dafs häufig die anaëroben Mundbakterien in den nach Passini oder Achalme hergestellten Kulturen kein mikroskopisches Wachstum erkennen lassen. Impft man nun von genannten Kulturen im flüssigen Agar ein dann erfolgt nach 3—4 Tagen bei 37° ein ziemlich üppiges Wachstum in der Tiefe der Gläser. In Bouillon (anaërobe) ist dagegen das Wachstum mikroskopisch nicht sichtbar.

Unterschiede beobachten, in der Verflüssigung des Blutserums oder darin bestehend, dafs einige Varietäten in Gelatine bei Zimmertemperatur zur Entwicklung kommen.

Wie schon an anderem Orte erwähnt, gedeiht der Bacillus fusiformis am besten in flüssigen Nährmedien, wo er die Eigenschaft hat, grofse, watteähnliche Flocken zu bilden, die im Reagenzglase teils zu Boden sinken teils an dessen Wänden haften bleiben. Die Flüssigkeit wird unter Ansammlung eines wenig kompakten Bodensatzes nach einigen Tagen klar. Ascites- und Serumbouillon wie auch die Bouillon nach Martin eignen sich für die Kultur dieses Bazillus gut. Er kann auch in einfacher Bouillon zum Wachstum kommen; viel schwieriger gestaltet es sich in Pferde- oder in Zuckerbouillon. Interessant ist die Tatsache, dafs, während in einfacher Bouillon Gasbildung auftritt, dieselbe unterbleibt, falls der Bazillus in Zuckerbouillon zur spärlichen Entwicklung kommt (üppig wächst er in diesem Nährboden überhaupt nicht).

In einem Substrat, bestehend aus kleinen Würfeln von geronnenem, sterilisiertem Rinderblutserum, mit sterilem Wasser hergestellt, wächst der Bazillus unter Erzeugung eines unangenehmen Geruches.

Die Kolonien auf erstarrtem Blutserum (in Gruberschen Röhrchen 8 Tage lang auf 75° sterilisiert!) zeigen ein filzig-verzweigtes Aussehen. Verflüssigung des Serums wird nicht beobachtet. Die Kultur ist ziemlich übelriechend. Die Gröfse der einzelnen Kolonien übertrifft auch in den günstigsten Fällen nie diejenige eines kleinen Stecknadelkopfes. Auf der Oberfläche von Ascites-Agar wachsen streptokokkenähnliche Kolonien. Auf gewöhnlichem Agar ist das Wachstum ein äufserst spärliches und geschieht nicht jedesmal. Es scheinen besondere, mir unbekannte Bedingungen nötig zu sein, um auf diesem Nährboden eine Entwicklung zu ermöglichen.

In tiefem Agar kann es bei reichlicher Aussaat zu üppigem Wachstum kommen, welches dadurch gefördert wird, dafs man den gewöhnlichen Nähragar durch Hinzufügung von etwas Bouillon weich macht. Es kommt hier, wie in den flüssigen,



ungezuckerten Nährmedien, zu starker Gasbildung. Der Bacillus fusiformis wächst nur unter streng anaëroben Verhältnissen und nur bei Bruttemperatur. Es haben demnach die Autoren, welche ihn auch bei Zimmertemperatur und in gewöhnlicher Nährgelatine gezüchtet haben wollen, sicherlich einen anderen Mikroorganismus in Händen gehabt.

Wenn die Züchtung dieses Mikroorganismus aus dem Belag von einigen Angina-Formen, aus Abszessen etc. herrührend, kurz mittels eines Materials, wo er reichlich und fast in Reinkultur vorhanden ist, sich leicht durchführen läfst, so darf man dasselbe nicht für die physiologischen Fälle annehmen, auch wenn der Mikroorganismus in grofser Zahl vorhanden sein sollte, wie dies manchmal am Zahnbelag gesunder Personen der Fall ist. Die unmittelbare Verwendung von festen Nährböden würde uns hier bei einer Isolierung des Spindelbazillus unbedingt im Stich lassen, wir müssen vielmehr zu einem Anreicherungsverfahren in flüssigen Nährböden unsere Zuflucht nehmen und von diesen auf die festen übergehen. Aber auch mit diesem Behelf wird der Zweck nicht immer erreicht, die Mifserfolge sind sogar sehr häufig.

Im allgemeinen kann man sagen, dafs, wenn das direkte mikroskopische Präparat die eben erwähnten Formen in vorwiegender oder wenigstens in gleicher Menge wie z. B. Kokken aufweist, eine Isolierung, mit Hoffnung auf Erfolg unternommen werden könne. Bei den erstmaligen derartigen Versuchen ist eine Selbsttäuschung sehr leicht möglich, da die Kokken klein, die Spindelbazillen aber grofs sind und deshalb auf dem mikroskopischen Felde jene zu überwiegen scheinen. Die sich daraus leicht ergebenden Mifserfolge werden aber dazu führen, mehr die tatsächliche Anzahl der Mikroorganismen der verschiedenen Arten ins Auge zu fassen als deren Gröfse. In den Fällen, wo die Spindelbazillen gegenüber den übrigen Keimen nicht wirklich die Überzahl aufweisen, ist es geraten, auf den Versuch zu verzichten, der doch keinen Erfolg zeitigen würde. Auch in den günstigsten Fällen wird es angezeigt sein, aufser den von mir bereits angegebenen Methoden auch noch zu den sauren Böden (½ % Essigsäure) Zuflucht zu nehmen; diese leisten besonders

dort gute Dienste, wo eine Verunreinigung von Mikroorganismen, die nicht zu den Kokken gehören, vorliegt. Der Widerstand dieser zwei Mikroorganismenformen gegen Essigsäure ist nämlich stärker als der der übrigen Bakterien, wie z. B. des Bacterium coli, während er hinter dem der gewöhnlichen Kokken zurückbleibt.

Ein anderes Gebilde, dessen Isolierung und Studium mit noch gröfseren Schwierigkeiten als beim Spindelbazillus von Vincent verknüpft ist, tritt uns in der Zahnspirokäte entgegen. Miller schreibt darüber:

»Spirochaete denticola, Spirochaete dentium, Zahnspirokäte wird nicht im kariösen Zahnbein, sondern an denselben Stellen gefunden wie Spirillum sputigenum, nämlich unter dem Zahnfleischrande, wo das Zahnfleisch schmutzig belegt und leicht entzündet ist, also bei Gingivitis marginalis. Das Bakterium stellt 8—25 μ lange Schrauben von sehr ungleichen Windungen und ungleicher Dicke dar, auch zeigen die Schrauben grofse Differenzen in ihrer Affinität für Farbstoffe. Die dickeren nehmen meist den Farbstoff viel schneller auf als die dünneren, sie haben auch weniger und höhere Windungen. Es ist fraglich, ob es sich hier nicht um zwei verschiedene Mikroorganismen haudelt, von welchen der dickere möglicherweise eiuen Entwicklungszustand von Spirillum sputigenum darstellt. Die Entwicklung und Pathogenese der Spirochaete dentium ist ebenso unbekannt wie die der anderen oben besprochenen nicht züchtbaren Mundbakterien. Auch über die Lebensbedingungen und Lebensäufserungen (Gärung, pathogene Wirkung etc.) wissen wir Näheres so gut wie gar nicht.«

Es ist bekannt, dafs nach Miller von Vincent auf die Spirokäten aufmerksam gemacht wurde, und zwar nicht wegen der Gingivitis marginalis, sondern wegen eines anderen krankhaften Prozesses.

Vincent beschrieb eine Form von Angina, welche er als die der Spindelbazillen bezeichnete und von der er in der Folge zwei Gruppen unterschied, nämlich die pseudodifterica und ulceromembranosa. Bei der ersteren weist die etwas geschwürige Schleimhaut eine kompakte Pseudomembran auf, die einige Tage bestehen bleibt. Das Fiber dauert 3 Tage und die submaxillaren

Drüsen sind geschwollen. Bei der Angina ulcero-membranosa jedoch bildet sich am dritten Krankheitstage ein mehr oder minder tiefes, mit einer Pseudomembran überzogenes Geschwür. Die Dauer dieser Form, die ebenfalls von Fieber und Schlingbeschwerden begleitet ist, wäre nach Vincent eine etwas längere als bei der Angina pseudodifterica, sie schwanke zwischen 8 Tagen und 2 Monaten.

Mikroskopisch wäre die Angina pseudodifterica durch fast ausschliefsliches Vorkommen von 8—12 μ langen, manchmal ziemlich krummen, spindelförmigen Bazillen charakterisiert. Bei der Angina ulcero-membranosa fänden sich aufser den obengenannten Bazillen auch noch der Zahnspiroköte vollkommen ähnliche Spirillen.

In der Folge wäre die Spirochaete dentium wie auch der Spindelbazillus in den verschiedensten Krankheitsprozessen, wie Geschwüren, Bauchfellentzündungen usw., angetroffen werden.

Was nun die Behauptung von Miller betrifft, dafs die Zahnspiroköte nicht im kariösen Zahnbein gefunden werde, so mufs ich dieselbe als zum mindesten sehr gewagt betrachten. Die tatsächliche Schwierigkeit des Nachweises von Spiroköten im kariösen Gewebe hat ihren Grund in der geringen Empfänglichkeit für die gewöhnlichen Anilinfarben seitens dieser Mikroorganismen wie auch in der Leichtigkeit, womit er die einmal angenommene Farbe abgibt. Trotzdem habe ich Gelegenheit gehabt, bei genauer Beobachtung meiner zahlreichen Präparate von kariösen Zähnen manchmal auch im kariösen Zahnbein die schönsten Spiroköten, entweder beinahe entfärbt oder mit noch gut erhaltener Färbung, wahrzunehmen.

Während uns die Reinkultur des Spindelbazillus gelungen ist, ist uns bis zur Stunde eine Reinzucht der Spiroköte nicht geglückt. Das erfolgreichste Kulturverfahren bestand im übrigen in der Verpflanzung des Mikroorganismus aus dem ihn in Menge enthaltenden Material in anaërobisches Serum-Kondenswasser Letzteres erhielten wir durch Sterilisierung der Proben von geneigtem Serum, das in Grubersche Röhrchen gebracht und zu

gleichen Teilen mit Wasser versetzt wurde. Auch die Ascites-Bouillon ergab gute Resultate.

Bemerkenswert ist, dafs der Spindelbazillus dann und wann ein dieser Spirokäte ganz und gar ähnliches Aussehen annimmt. In einer unserer nächsten Veröffentlichungen, worin wir uns mit weiteren Anaërobien des Mundes befassen werden, hoffen wir auch von ihr eine genaue Beschreibung liefern zu können.

Natürliche Zahnkaries.

Beim Studium dieses Prozesses wie übrigens bei allen Teilen meiner Arbeit diente mir als Führer das meisterhafte Werk von Miller. Als Material benützte ich eben ausgezogene kariöse Zähne, die mir vom Zuchthause, von der Poliklinik und von einem befreundeten Kollegen, der hier als Zahnarzt praktiziert, geliefert wurden. Die Zähne wurden in wässerigen Lösungen von 9% Salpetersäure, die man ein paar Wochen einwirken liefs, wiederholt entkalkt. Nach stattgehabter Entkalkung wurden dieselben 10 Stunden lang in fliefsendem Wasser gelassen, damit jede Spur von Säure entfernt würde. Nachher wurden sie in die verschieden titrierten Alkohollösungen (mit 55 proz. Alkohol angefangen) hineingetan. Bei späteren Versuchen verfuhr ich in folgender bequemeren Weise: Es wurde eine 3proz. Lösung von Salpetersäure in 70proz. Alkohol verwendet und darin der Zahn einige Wochen gelassen. Hierauf wurden die Zähne in 96proz. Alkohol gebracht, welcher so oft erneuert wurde, bis das Lackmuspapier sich nicht mehr rot färbte. Gute Dienste leistete mir auch die $^1/_2$—1 proz. wässerige Lösung von Salzsäure. Da aber die Salzsäure die Grundsubstanz der Zähne anschwellt, so ist es empfehlenswert, die von Ebner angegebene Formel zu verwerten, bei welcher das Kochsalz die Anschwellung des Gewebes verhindert. Die Ebnersche Lösung wird folgendermafsen hergegestellt: Eine kalt gesättigte Kochsalzlösung wird mit 2 Volumen Wasser verdünnt, worauf 20% Salzsäure hinzugefügt wird. Diese Flüssigkeit entkalkt sehr langsam und mufs häufig erneuert werden. Nach der Entkalkung müssen die Zähne in einer ge-

sättigten Kochsalzlösung, welche zur Hälfte mit Wasser verdünnt wird, gewaschen werden. Um die vollständige Neutralisierung des Zahngewebes zu erzielen, werden der Kochsalzlösung zweckmäfsig einige Tropfen Ammoniak hinzugefügt. Miller sagt von diesem Verfahren: »Solche Präparate haben den grofsen Nachteil, dafs man nicht imstande ist, an ihnen das kariös erweichte von dem künstlich erweichten Zahnbein genau zu unterscheiden; auch vermag man nicht genau festzustellen, welche Veränderungen des Zahnbeins etwa durch die künstliche Entkalkung hervorgerufen worden sind.«

Millers Bemerkung ist richtig; ich beabsichtigte indes, mich bei dieser ersten Veröffentlichung nur mit den verschiedenen Bakterienarten zu beschäftigen, die zur Entstehung der Karies beitragen, wie auch mich ein wenig über die Verbreitung der Bakterien im Gewebe zu orientieren, und deshalb hatten die Veränderungen, welche das Zahngewebe aufweist, für mich geringeres Interesse.

Gewöhnlich stellt man Präparate von Zahnbein in der Weise her, dafs man ziemlich dicke, das erweichte und normale Gewebe umfassende Schliffe anlegt, die dann in verdünnter Säure entkalkt und mit dem Mikrotom in mikroskopisch dünne Schnitte zerlegt werden. Wie gesagt, habe ich statt dessen die Zähne in toto in der oben angegebenen Weise entkalkt, entwässert und dann in Xylol 10—20 Stunden gelassen; hierauf wurden sie in der üblichen Weise paraffiniert und fast immer in horizontaler Richtung zerschnitten. Die ganze Schnittfläche war aber nicht leicht zu gewinnen, und ich mufste mich oft mit einem Teile derselben begnügen.

Was die Färbung des Gewebes betrifft, so gibt Miller an, dafs nach seiner Erfahrung das Pikrokarmin resp. Pikrolithionkarmin sich am besten eignet. Da mich hauptsächlich die Bakterienfärbung interessierte, habe ich zu den basischen Anilinfarben und vornehmlich zum Gentianaviolett Zuflucht genommen. Sehr gute Resultate lieferte mir auch die von Miller empfohlene Gramsche Methode, ebenso das Karbolsäurethionin. Effektvolle

Präparate (Fig. 1 und 6) erhielt ich durch die folgende Noggerathsche Mischung:

Methylenblau	2 g
Gentianaviolett	4 »
Methylgrün	1 »
Krisoidin	4 »
Fuchsin	3 »
Destilliertes Wasser	200 »

Dafs es übrigens schwer hält, über Färbungsmethoden einig zu werden, bewies mir die Tatsache, dafs ich mit dem von Miller angegebenen Färbungsverfahren keine guten Präparate erzielen konnte. Miller schreibt: »Eine auffallend schöne Doppelfärbung erhält man, wenn man die mit Fuchsin gefärbten Schnitte auf einige Minuten in eine Vesuvinlösung bringt, sie dann mit Wasser abspült, auf einige Minuten in Alkohol legt, dann in Nelkenöl aufhellt und sie in Kanadabalsam einlegt. Die Bakterien zeigen sich rot, das Zahnbein gelbbraun.« Nach meinen Erfahrungen war dieses Verfahren das am wenigsten erfolgreiche.

Was die herkömmliche Einteilung der Zahnkaries in die Karies des Schmelzoberhäutchens, die des Schmelzes und die des Zahnbeins anbelangt, so hat dieselbe für das Studium der verschiedenen Bakterien, welche bei der Karies tätig sind, weniger Bedeutung. Sie hätte Wert, falls wir es mit sehr akuter Karies zu tun hätten, wo beim schnellen Verlauf die Bakterien nicht zum Verfall kommen und deshalb mangels Degenerationsformen einem genaueren Studium unterzogen werden können. Das dürfte indes höchst selten vorkommen und in der Regel wird man es immer auch mit Degenerationsformen zu tun haben, die auch bei genauen Untersuchungen, wie die von Miller waren, Täuschungen hervorrufen können.

Wie ich in meinen Präparaten sehen konnte, ist bei kariösen Zähnen das Schmelzoberhäutchen in eine solche Anhäufung von Bakterien umgewandelt, dafs Wedels Ausdruck »matrix von Leptotrix bucalis«, womit er das Schmelzoberhäutchen belegt,

insofern den Nagel auf den Kopf trifft, als er die beständige Wucherung von Leptotrix schildert. Von einem genetischen Zusammenhang zwischen Schmelzoberhäutchen und Bakterium kann natürlich heutzutage nicht die Rede sein.

Miller schrieb: »In den letzten Stadien der Karies sehen wir nur eine aus Bakterien (Kokken, Stäbchen und Fäden) zusammengesetzte Membran, welche durch den Rest des Häutchens zusammengehalten wird.« Man darf sich jedoch nicht täuschen lassen, da wegen der schlechten Färbbarkeit der Leptotrix- und Streptotrixfäden in diesem Stadium der Karies es leicht vorkommen kann, dafs die einzelnen Fäden wie aus Kokken, Bazillen und kleineren Fäden zusammengesetzt erscheinen (wie z. B. in den Abbildungen 1, 2, 4, 5).

Was den Schmelz angeht, so ist es bekannt, dafs die Bakterien auf den normalen Schmelz keine direkte Wirkung auszuüben imstande sind und dafs, wie Miller richtig bemerkte, nachdem der Schmelz einmal von der Karies durchbohrt ist, die weitere Zerstörung desselben hauptsächlich von der inneren Fläche vor sich geht. Die äufsere Fläche des Schmelzes hat keine Anlage, von den Bakterien angegriffen zu werden. Die Dissolution des Schmelzes ist eine indirekte und auf die chemische Leistung der Bakterien zurückzuführen. Der Schmelz hat jedoch für die Möglichkeit der Entstehung der Karies eine ausschlaggebende Bedeutung und mag die Erklärung geben, warum mechanische Einflüsse, welche das Verschwinden eines Teils des Schmelzes zur Folge haben, auch zur Karies führen. Der Schmelz und seine Beschaffenheit kann auch die Erklärung geben, warum manche Zähne leichter von der Karies befallen werden als andere.

Die Karies des Zahnbeins ist in so trefflicher Weise von Miller studiert und beschrieben worden, dafs ich nur diejenigen Punkte erwähnen möchte, die von Millers Untersuchungen in irgend einer Beziehung abweichen oder dieselben ergänzen. Vor allem beschreibt Miller das Vorschreiten der Bakterienmassen im Zahngewebe und als eine sehr seltene Eigentümlichkeit desselben führt er einen Fall an, wo die Bakterien in einer Art vordringen, die sich am besten mit dem Marsch einer Armee in ein

feindliches Gebiet vergleichen läfst. In der von Miller gegebenen Abbildung sehen wir zwei durch Zwischenräume getrennte, von Bazillen gebildete Bogen, welche konzentrisch ein am äufseren Zahnrande befindliches Nest von Mikroorganismen umspannen. Miller gibt an, dafs es ihm nicht möglich war, für diese Erscheinung eine Erklärung zu finden. Ich habe einen Fall studiert, den ich abbilden liefs, wobei das Eindringen der Bakterien ins Gewebe sich mit einem hämorhagischen Niereninfarkt vergleichen liefs. Ich legte mir dabei die Frage vor, ob die von Miller beobachtete Erscheinung nicht etwa dadurch hervorgerufen worden sei, dafs in einem dem meinen ähnlichen Falle das Zahnbein vom Bakterieninfarkt zwar infiziert, aber nicht vollgepfropft wurde, so dafs die Schnitte die von Miller beschriebene Form aufwiesen (Fig. 3).

Ich mufs ferner noch einen Punkt hervorheben, der bei Millers Untersuchungen unklar ist und wahrscheinlich auf ungenauer Interpretation der Präparate und mangelhafter Technik in den Kulturmethoden beruht. Miller schreibt, nachdem er die Fransen von Bakterienfäden am Rande des kariösen Zahnbeins geschildert hat, folgendes: »Untersuchen wir eine etwas tiefer gelegene Zone, so finden wir die Kanälchen meist mit Mikrokokken und Stäbchen gefüllt, erstere aber entschieden vorherrschend.« Diese Angabe von Miller, dafs in den mikroskopischen Präparaten die Mikrokokken vorherrschen, sollte erwarten lassen, dafs auch bei den Kulturmethoden am meisten Kokken zutage träten. Das ist indessen nicht der Fall und sowohl bei der Beschreibung seiner eigenen Versuche wie auch jener von Vignal und Galippe, ferner auch jener von C. Jung kommt Miller zum Schlusse, dafs die Kulturen sowohl auf Agar wie auf Gelatine fast ausschliefslich Bazillen zutage gefördert haben. Auf 18 Untersuchungen von kariösen Zähnen, die von Vignal und Galippe angestellt wurden, war z. B. nur fünfmal ein grofser Kokkus vorhanden und das nur bei solchen Zähnen, wo die Karies schon bedeutend vorgeschritten war und die Kanälchen schon sehr erweitert waren. Bakterien wurden dagegen in jedem Falle beobachtet. Ungefähr gleich lauten die

Untersuchungen von Miller und Jung. Millers Angabe, dafs man viele Präparate finde, die beinahe ausschliefslich Kokken zeigen, ist daher schwer verständlich. Wir müssen also auch hier die früher von uns geäufserte Annahme gelten lassen, dafs es sich auch in den Fällen, wo Miller ausschliefslich Kokken vorzufinden glaubte, um Bazillen gehandelt habe, die degeneriert waren, und deshalb sich nur stellenweise und nur punktförmig färben liefsen. Auf alle Fälle sind wir nach Durchmusterung von vielen Präparaten zur Überzeugung gekommen, dafs die bazilläre Infektion bei der Karies eine viel gröfsere Ausdehnung hat als die Infektion durch Kokken.

Auch mit folgendem Passus von Miller kann ich mich nicht einverstanden erklären: »Diese beiden Bakterienarten kommen gewöhnlich in getrennten Kanälchen vor; so sehen wir häufig das eine nur mit Mikrokokken, das daneben liegende nur mit Stäbchen vollgepfropft, doch findet man auch Kanälchen, die mit einer Mischung beider Arten angefüllt sind. Selten sieht man das eine Ende des Kanälchens mit Stäbchen, das andere mit Kokken gefüllt.« Was für Miller die Ausnahme wäre, ist aber für unsere Untersuchungen die Regel, nämlich die Mischinfektion von Kokken und Stäbchen in ein und demselben Kanälchen (Fig. 9).

Was ich am meisten hervorheben möchte und wovon in den Millerschen Untersuchungen keine Rede ist, ist das häufige Auftreten in den mikroskopischen Präparaten von Köpfchenbakterien, die, wie aus meinen kulturellen Untersuchungen als sehr wahrscheinlich hervorgeht, Putrificusarten darstellen (Fig. 6 und 7).

Weitere Formen, die von Miller keine Berücksichtigung fanden, sind ebenfalls sporenhaltige Bazillen, die, blafs gefärbt, hie und da, aber immerhin seltener als die Köpfchenbakterien, sich in den Präparaten zeigen. Einigemal sah ich in meinen Präparaten typische Klostridienformen, welche gleichfalls schwach gefärbt erschienen. Im Widerspruch zu der oben angegebenen Behauptung von Miller habe ich in meinen Präparaten von kariösem Zahnbein auch Spirillen und schön gewundene Spiro-

käten wahrgenommen. Wenn man einmal die Aufmerksamkeit auf alle diese Formen lenken wird, die nach meinem Dafürhalten zu den Anaëroben gerechnet werden müssen, werden dieselben sicher häufiger vorgefunden werden (Fig. 8).

Künstliche Zahnkaries.

Schon seit 1867 hatte Magitot verschiedene Experimente vorgenommen, um die Wirkung der Säuren, der Salze und verschiedener Gärungsprodukte von Kohlehydraten und Eiweifsstoffen auf die Zähne zu studieren. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, dafs sich mittels verschiedener Substanzen an den Zähnen Veränderungen hervorrufen liefsen, welche makroskopisch denjenigen der Zahnkaries ganz ähnlich waren. Er schrieb diese Veränderungen der Wirkung von Säuren zu. Bei den Gärungen würden die Säuren von den Gärungserregern gebildet, auf Kosten der vergärenden Substanzen. Milles und Underwood konstruierten einen grofsen Inkubator, in welchem sie während 6 Monaten eine Mischung von Milch, Brot, Fleisch, Speichel und kariösen Zähnen bei Bruttemperatur liefsen. Sie mufsten aber erklären: »Nachdem dieses höchst unappetitliche Experiment 6 Monate fortgesetzt worden war, verbreitete die Fäulnis des Inhalts in dem Behälter einen so üblen Geruch, dafs wir genötigt waren, das Experiment aufzugeben. Meine Gesundheit hatte dadurch gelitten, da ich jener schlechten Ausdünstung anhaltend ausgesetzt war.« Mit diesem Experiment konnte aber keine der Zahnkaries ähnliche Veränderung verursacht werden.

Miller bemerkte hiezu richtig: »Es mufs einem jeden ohne weiteres einleuchten, dafs ein solcher Versuch gänzlich mifslingen mufste, da man in einem faulenden Gemisch nimmermehr Karies wird erzeugen können. Es fehlt dazu die nötige Säure.« Miller wiederholte dann den Versuch, indem er denselben in geeigneter Weise abänderte.

Er zerschnitt Zähne, welche von Karies frei waren, in kleine Stücke und stellte dieselben in eine Mischung von Brot und Speichel. Diese Mischung wurde 3 Monate lang bei einer Tem-

peratur von 37° C gehalten und während dieser Zeit verschiedenemal erneuert. Nach dieser Zeit beobachtete man bei fast allen Stücken mehr oder weniger deutliche Veränderungen. Bei vielen konnte man diese künstlich kariös gemachten Zähne von auf natürlichem Wege kariös gewordenen unmöglich unterscheiden. Als einziger Unterschied zwischen künstlicher und natürlicher Karies ergab sich, dafs das künstlich kariös gemachte Zahnbein nicht die Jodreaktion gibt. Wie soll man sich nun die künstlich hervorgerufenen Veränderungen der Zähne erklären?

Die harte Zahnsubstanz, welche bekanntlich aus Calciumphosphatkarbonat besteht, wird von den bei den Gärungsprozessen gebildeten Säuren angegriffen und gespalten; die harte Zahnsubstanz würde also bei den Gärungen sich so verhalten wie der kohlensaure Kalk, welcher in den Kulturen zugesetzt wird, um die gebildete Säure zu neutralisieren. Die Hinzufügung von kohlensaurem Kalk ist von vielen Autoren empfohlen worden, um eine Peptonisierung von Eiweifssubstanzen durch Reinkulturen von peptonisierenden Bakterien oder auch durch Mischkulturen von diesen letzteren mit anderen Bakterien zu ermöglichen. Die Säure, welche in diesen Experimenten hauptsächlich die Entkalkung der Zähne hervorruft, ist die Milchsäure, was man schon im voraus aus dem Umstande annehmen konnte, dafs durch Gärung der Kohlehydrate im Munde hauptsächlich Milchsäure gebildet werde; überhaupt ist diese Säure das Hauptprodukt bei den meisten Aërobien- und Anaërobiengärungen. Den Beweis für diese Anschauung kann man durch die Ewaldsche Probe oder durch andere chemische Verfahren liefern; anderseits weifs man, dafs die Zahnsubstanz in verdünnten Lösungen von Milchsäure schnell entkalkt wird. Sind die Zähne auf einem Gebiet einmal entkalkt und hat das Calciumphosphatkarbonat die Acidität der Lösung entweder neutralisiert oder abgeschwächt, so sind die günstigsten Bedingungen geschaffen für die Wirkung der peptonisierenden Fermente der Bakterien. Es mufs aber hervorgehoben werden, dafs die Aërobien allein, wenn sie auch die Entkalkung verursachen könnten, doch niemals imstande wären, die organische Substanz der Zähne aufzulösen. Diese

Arbeit wird von den anaëroben Bakterien geleistet. Dieser Punkt ist eigentlich das wichtigste Ergebnis unserer Untersuchungen. Aus dem Versuch von Miller wurde man einigermafsen orientiert, in welcher Weise die Karies vor sich gehe. Über die eigentlichen Erreger derselben wufste man aber gar nichts, da dieser Autor niemals mit Reinkulturen Zahnkaries hervorgerufen katte. Das Fehlen der Jodreaktion wurde von Miller richtig erklärt, welcher annahm, dafs von den vielen Bakterienarten, die sich beim Kariesprozefs beteiligen, die eine wenigstens, welche die Jodreaktion bedinge, aufserhalb des Mundes nicht zu wachsen scheine. Diese Erklärung müssen wir nur insofern verändern, dafs wir sagen, dafs diejenigen Arten, welche die Jodreaktion bedingen, aufserhalb des Mundes unter aërobiotischen Zuständen nicht wachsen können.

Einen anderen Punkt möchten wir erwähnen, der von Miller falsch erklärt wurde und der scheinbar mit unserer obigen Feststellung, dafs die Fäulnisanaërobien die Ursache der Karies sind, im Widerspruch steht. Miller schreibt: »Bewahrt man einen frisch extrahierten kariösen Zahn in einer faulenden Eiweifslösung längere Zeit auf, so hört die Erweichung des Zahnbeins vollkommen auf, während das schon erweichte Zahnbein allmählich verschwindet.« Diese Tatsache wurde von Miller ins Treffen geführt, um die Fäulnistheorie zu bekämpfen. Dabei hat aber der Genannte übersehen, dafs es Fäulnisanaërobien gibt, wie z. B. Bacillus bifermentans sporogenes, welche imstande sind, beide Aufgaben zu erfüllen, welche also Kohlehydrate zu vergären vermögen wie auch Eiweifs zu zersetzen. Im Munde fehlt die Säurequelle niemals, welche in den künstlichen Untersuchungen der obenerwähnten Autoren natürlich nicht vorhanden war, weil hier bei der Gärung der Eiweifsstoffe die Verhältnisse der verschiedenen Bakterien zueinander ganz andere waren als im Munde. Deshalb ist auch die folgende Behauptung Millers gar nicht zutreffend: »Die Auffassung, dafs beim Zerfall der Pulpa die zur Erweichung des Zahnbeins nötige Säure gebildet wurde, ist unhaltbar. Einmal, weil die Reaktion putrider Pulpen stets alkalisch ist, sodann weil im Fall eine saure Reaktion unter ganz

besonderen Umständen auftreten sollte, alle Bakterien der Pulpa ihr Leben einbüßsen würden, bevor nur ein Bruchteil der zu der obenerwähnten Entkalkung erforderlichen Säuremenge gebildet würde.« Die Behauptung, dafs die Bakterien durch die gebildete Säuremenge getötet würden, ist hinfällig, wie wir schon in unserer vorläufigen Mitteilung dargetan haben. Wie wir damals berichteten, gibt es unter den Mundanaërobien solche, welche in 2 % milchsäurehaltigen Nährböden gut gedeihen, einige darunter, die sogar in Nährböden von 3 % dieser Säure wachsen können. Die Tatsache, dafs die Reaktion putrider Pulpen stets alkalisch sei, läfst sich dadurch erklären, dafs die beim Zerfall der Pulpa gebildete Säure vom Zahnsalze gebunden wird. Dafs übrigens bei der Fäulnis auch Säure gebildet werden kann, ist durch die in jüngster Zeit erschienene Abhandlung von Gottlieb Salus bewiesen worden.

Die Frage, ob die Zahnkaries durch einen spezifischen Mikroorganismus bedingt sei oder ob dieselbe von verschiedenen Bakterien hervorgerufen werden könne, haben sich viele Autoren vorgelegt. Klenke beschrieb im Jahre 1850 eine Protokokkusart, welche Schmelz und Zahnbein in ähnlicher Weise verflüssigen sollte, wie der Hausschwamm das Holz der Möbel erweicht. Klenke sagt: »Wir haben in dem Prozefs, welchen ich der Kürze wegen Destructio dentis vegetativa nennen will, den Pilz vor uns, der durch seine Vegetation die Zahnmasse erweicht und zerstört und aus den chemischen Elementen derselben sich selbst ernährt; es ist dieser Parasit ein wahrer Protococcus dentalis.« Die folgenden Forscher, unter denen hauptsächlich Miller, Vignal, Galippe und Jung zu erwähnen sind, sind hierin etwas vorsichtiger gewesen. Das Ergebnis der von diesen Autoren angestellten Untersuchungen läfst sich im folgenden Wort von Galippe zusammenfassen: »Il n'y a point un parasite de la Carie, il y a des parasites de la Carie.« Dem möchte auch ich beipflichten, mit der Einschränkung jedoch, dafs einzelne bestimmte Arten und gerade diejenigen, welche von diesen Autoren aus den obenerwähnten Gründen übersehen worden sind, notwendigerweise vorhanden sein müssen. Mit

diesem Vorbehalt kann man auch die Millersche Definition der Zahnkaries annehmen, die also lautet: »Die Zahnkaries ist ein chemisch-parasitärer Vorgang, bestehend aus zwei deutlich ausgeprägten Stadien: der Entkalkung resp. Erweiterung des Gewebes und der Auflösung des erweichten Rückstandes«, — und der wir also nur anzufügen hätten: bedingt hauptsächlich durch die Tätigkeit der anaëroben Bazillen.

Die Richtigkeit dieser Auffassung geht auch aus folgenden Experimenten hervor. Ich entkalkte Zähne mittels 5—10proz. Salzsäure und nach stattgehabter Entkalkung neutralisierte ich die saure Reaktion der Zähne, indem ich dieselbe in einem Kolben Wasser, welches mit einigen Tropfen Ammoniak alkalisch gemacht wurde, einen Tag lang liefs. Nachher tat ich die Zähne in Bouillonreinkulturen von Bacillus proteus vulgaris, Bacillus fluorescens liquefaciens und von den gewöhnlichen Eiterkokken hinein. Eine vollständige Peptonisierung des Zahnknorpels konnte auch nach Verlauf vieler Wochen nicht beobachtet werden. Auch bei Verwendung von Mischkulturen der aëroben Bakterien, die aus Agarplatten isoliert wurden, konnte kein besseres Resultat erzielt werden. Dagegen gewann ich eine vollständige Peptonisierung der erkalkten Zähne durch Anwendung von Reinkulturen des aus dem Munde isolierten Bacillus putrificus wie auch von Mischkulturen der von mir rein gezüchteten anaëroben Bazillen der Buttersäuregruppe. Das Ausbleiben der Peptonisierung bei den Versuchen mit Aëroben konnte nicht durch die Säurebildung allein erklärt werden, obwohl dieselbe gewifs eine grofse Rolle spielt, was sich auch dadurch kundgab, dafs schon nach viertägigem Aufenthalte im Brutschrank eine deutliche Gasbildung bemerkbar war. Dieselbe war auch in den mit Reinkulturen von Kokken angestellten Versuchen aufgetreten und die Reaktion des Nährbodens war auch hier deutlich sauer. Aber selbst nach wiederholter Neutralisierung des Substrates waren weder die Kokken noch die Mischung der aëroben Bakterien imstande, das Zahnbein so zu verändern, wie dies die Anaëroben allein bewirkten. Andere Versuche machte ich mit vollständig gesunden Zähnen, welche ich in Röhrchen, die sich von den Gruberschen nur

durch Erweiterung des Halses unterschieden, steckte und dieselben bei 100° eine 1/2 Stunde lang im Kochschen Topfe sterilisierte. In diese Röhrchen brachte ich noch 10 ccm 2proz. Zuckerbouillon, der ich ferner einige Zuckerkristalle beifügte. Solche Kulturen wurden mit den isolierten Anaëroben und hauptsächlich mit Bacillus bifermentans sporogenes infiziert und dann das Vakuum hergestellt. Nach 4—6wöchigem Aufenthalt bei 37° wurden die Zähne untersucht. Der Schmelz war von den Bakterien nicht angegriffen, dagegen waren die Wurzeln der Zähne so erweicht, dafs sie mit einem Seziermesser zerschnitten werden konnten.

Sie zeigten ferner alle die makroskopischen Veränderungen, welche der Karies eigen sind.

Wenn die mit den Anaëroben eingeimpfte Zuckerlösung, die beim Öffnen der Gruberschen Röhrchen sehr übelriechend war und sauer reagierte, alkalisch gemacht wurde, konnte man bei zweckmäfsiger Erneuerung der Flüssigkeit eine vollständige Zerstörung des Zahngewebes hervorrufen, welche als wahre Fäulnis anzusehen war. Somit ist die Annahme, dafs die Zähne aufserhalb der Mundhöhle nie faulen, widerlegt.

Die grofse Bedeutung der Reaktion des Substrats für die Tätigkeit der anaëroben Mikroorganismen sowohl bei den im Munde sich abwickelnden Prozessen wie auch bei den verschiedenen durch genannte Mikroorganismen im Magen und Darmtraktus hervorgerufenen Erscheinungen werde ich in der folgenden Mitteilung auseinandersetzen.

Berichtigung.

In der Fufsnote 1 auf S. 355, Zeile 1 und 4 von unten lies statt mikroskopisch makroskopisch.

Literatur.

Achalme. Annales de l'Institnt Pasteur. Année XVI, 1902.
Bandisch. Berl. Klin. Woch. Zitiert nach P. Ritter.
Beijerinck. Ref. Kochs Jahresberichte d. Gärungsorganismen, 1893, S. 364
Beitzke. Zentralbl. f. Bakt. Referate, 1904.
Bienstock. Archiv f. Hygiene, Bd. 36, 1899 u. Bd. 39, 1901.
Frosch. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 13.
Konrad. Archive of Dentistry, 1886.
Lewkowicz Ksawory. Ref. Bnll. Ann. Pastenr., 1903, 30/12.
Matzenauer. Archiv f. Dermath. u. Syph., 1901.
Miller. Die Mikroorganismen der Mundhöhle. G. Thieme, 1892.
Miller n. Underwood. Zitiert nach Miller.
Nencki u. Lachewicz. Pflügers Archif f. d. ges. Phyriologie, Bd. 33.
Pfaff. Abhandlung der Zähne, 1756.
Passini. Jahrb. f. Kinderheilk, N. F. 57, H. 1.
Plaut. Handhuch d. pathog. Mikroorganismen von Kolle n. Wassermann, Bd. I.
Raemnssen. Om Dryking af Mikroorganisme fro Spyt af sunde Menesker, 1883.
Rodella. Bakteriologische Befunde im Eiter einee gashaltigen Abszesses. Zentralbl. f. Bakt., 1903, Nr. 3. — Il bacillo fusifonue di Vincent Reale Società ital. d'igiene, 1903, Nr. 3. — Einiges zur Technik der bakt. Untersuchungen der Mundhöhle. Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 37, 1904.
Salns. Archiv f. Hygiene, 1904.
Schattenfroh n. Grafsberger. Ebendaselbst, Bd. 37, 1900 u. Bd. 48 1903.
Spiegelberg. Zitiert nach P. Ritter.
Tissier. Annales de l'Institnt Pasteur, 1902 et 1903.
Vignal u. Galippe. L'odontologie, März 1889.
Veillon et Zuber. Archives de pathologie.
Wedl. Pathologie der Zähne. Zitiert nach Miller.

Erklärung zu Tafel V.

Fig. 1. Kariöses Zahnbein. Querschnitt. Viele den Streptokokken ähnliche Gebilde sind bei näherer Betrachtung als Leptotrix- bzw. Streptotrixfäden aufzufassen. Färbung mit der Noggeratschen Mischung.

Fig. 2. Querschnitt durch einen stark kariösen Zahn. Die Infektion erfolgt in der Richtung der Zahnbeinkanälchen und auch parallel der Schnittfläche. Karbolthioninfärbung.

Fig. 3. Zuckerhutähnliche Infektion des Zahnbeins. Gramsche Färbung.

Fig. 4. Querschnitt durch einen Backenzahn. Deutliche Leptotrix- und Streptotrixfransen (meistenteils Involutionsformen) am Rande des Zahnes. Durchwucherung der Grundsubstanz mit Kokken, plumpen Bazillen, schmalen Bazillen und einigen Köpfchenbakterien. Gramsche Färbung.

Fig. 5. Schöne Fäden am Rande des Zahnbeines. Noggeratsche Färbung.

Fig. 6. Querschnitt durch einen Backenzahn; zeigt die Kanälchen fast ausschliefslich mit Bazillen infiziert. In der äufsersten Partie des Präparats neben schlanken Bazillen sind verschiedene Kokkenformen zu erkennen. Zwei Köpfchenbakterien (Putrifiensarten) treten sehr deutlich hervor, andere sind in den Kanälchen mit verschiedenartigen Bakterienformen vermischt. Färbung mit der Noggeratschen Mischung.

Fig. 7. Querschnitt durch einen Backenzahn; zeigt sehr viele Köpfchenbakterien (Putrifiensarten), spirochätenähnliche Gebilde, Streptotrixarten, schlanke Bazillen und wenige Kokken. Karbolthioninfärbung.

Fig. 8. Querschnitt durch einen Spitzzahn. Es war in dem Zahn wie ein Nest von feinen Spirillen und anderen Formen, die ich nicht erkennen konnte (Degenerationsformen? Kunstprodukte?). Färbung mit der Noggeratschen Mischung.

Fig. 9. Querschnitt durch einen Backenzahn. Die einzelnen Kanälchen sind mit Bazillen und Kokken vollgepfropft. Karbolthioninfärbung.

Die Zeichnungen wurden von Herrn Dr. med. Marangoni der Kgl. Chirurgischen Klinik zu Padua ausgeführt.

Vergröfserung der Fig. 8: Reichert, Oc. 8, Imm. $^1/_{15}$,
» » » 9: Reichert, » 6, » $^1/_{15}$.

Sämtliche übrigen Abbildungen wurden mit Oc. 4, Imm. $^1/_{12}$ gezeichnet.

Bei der Reproduktion der Tafel V, Figur 6, sind leider einige Köpfchenbakterien, die im Original deutlich sichtbar waren, ausgeblieben.

Über die Grenzen der Verwendbarkeit des Malachitgrünagars zum Nachweise der Typhusbazillen im Stuhle.

Von

Dr. med. K. Nowack.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Rubner.)

Nachdem Löffler (1) einen Malachitgrünagar zum kulturellen Nachweise der Typhusbazillen in Fäces, Wasser und Erde empfohlen hatte, haben Lentz u. Tietz (2) an Typhusstühlen die Löfflersche Methode nachgeprüft und eine besondere Untersuchungsmethode geschaffen, mit der sie Typhusbazillen noch nachweisen konnten, wo das v. Drigalski-Conradische (6) Verfahren versagte. Jorns (3) konnte bei seinen Versuchen mit künstlichen Typhusstühlen, bei denen er die Zahl der vorhandenen Typhusbazillen genau kannte, diese nach dem Verfahren von Lentz u. Tietz noch nachweisen bei einem Verhältnis der Typhusbazillen: Stuhlkeimen = 1 : 8000, während ihm, ebenso wie Ficker u. Hoffmann (5) (zitiert nach Klinger), der Nachweis der Typhusbazillen nach dem Verfahren von v. Drigalski-Conradi nur bis zu dem Verhältnis von 1 : 300 gelang. Schließlich kam auch Klinger (4), der an Typhusstühlen vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit der neueren Methoden zum Nachweise der Typhusbazillen in den Darmentleerungen anstellte, zu dem Resultate, daß die Lentz u. Tietzsche Methode die leistungsfähigste sei; er verlangt aber eine ganz bestimmte Reaktion des Agars.

Diese von Klinger zuerst aufgestellte Forderung nach einer ganz bestimmten Reaktion des Agars forderte zur Nachprüfung auf, weil seine Resultate bei den vergleichenden Untersuchungen über die Einwirkung des Malachitgrünagars auf das Wachstum der Typhus- und Kolibazillen mit den von Jorns gefundenen nicht übereinstimmen. Jorns fand ebenso wie Löffler, dafs Typhusbazillen bei einer Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 der Höchster Farbwerke von 1 : 1000 noch auswuchsen, Kolibazillen aber nicht. Dagegen stellte Klinger fest, dafs auf lakmusneutralem mit 0,1 % (= 1 : 1000) desselben Malachitgrüns versetztem Agar Typhusbazillen in 24 Stunden nicht, Kolibazillen aber verhältnismäfsig gut und dafs bei 0,08 % (= 1 : 1400), 0,07 % (= 1 : 1600), 0,06 % (= 1 : 1800) und 0,05 % (= 1 : 2000) die Typhusbazillen zwar immer besser, die Kolibazillen aber noch üppiger auswuchsen.

Die folgende Tabelle giebt eine vergleichende Übersicht über die Zusammensetzung des Agars und die verwendete Sorte und Menge des Malachitgrüns bei den bisherigen Untersuchern. Diejenigen Angaben, welche in den betreffenden Arbeiten nicht ausdrücklich gemacht sind, deren Annahme aber berechtigt ist, sind in der Tabelle mit einem ? versehen.

(Tabelle siehe Seite 376.)

Ich verwendete wegen der viel gröfseren Billigkeit ebenso wie Klinger Liebigs Fleischextrakt bei der Herstellung des Agars, da das ebenfalls billige Pferdefleischwasser nach Ficker wegen seines hohen Zuckergehaltes das Wachstum des Bacillus coli sehr begünstigt. Die Bereitung des Agars geschah folgendermafsen: In einem 2 l Kolben wurden 1 l destilliertes Wasser, 5 g Kochsalz, 10 g Pepton sicc. Witte, 10 g Liebigs Fleischextrakt und 20 g Stangenagar gegeben und im kochenden Wasserbade oder schneller im siedenden Kochsalzbade (gesättigte Kochsalzlösung vom Siedepunkt 107°) gelöst. Genau 20 ccm des flüssigen Agars wurden mit $^1/_5$ Normalnatronlauge bis zum Phenolphhtaleinneutralpunkte titriert und zu dem übrigen gemes-

Tabelle I.

Name des Untersuchers	Zusammensetzung des Agars	Neutralisationsmittel	Reaktion des Agars	Bezeichnung des Malachitgrüns der Höchster Farbwerke	Konzentration, bei der Typhusbazillen nicht mehr auswuchsen	Typhusbazillen noch auswuchsen	Kolibazillen nicht mehr auswuchsen	Kolibazillen noch auswuchsen	Praktisch angewendete Konzentration
Löffler	gewöhnlicher 2proz. Fleischwasserpeptonagar	Sodalösung ?	Lakmusneutral ?	Nr. 120 ?	—	1 : 1000 ?	1 : 4000 ?	—	1 : 1000 bis 1 : 4000
Lentz u. Tietz . .				I	1 : 2000	1 : 4000 erst nach 48° in kl. krnstigen Kol.	1 : 8000	1 : 10 000 schwach	1 : 6000
				Nr. 120	—	1 : 1000	—	1 : 25 000 ganz vereinzelte	1 : 2500
Jorns	2 proz. Rindfleischnäbragar	Sodalösung	Lakmusneutral	I a	—	1 : 10 000	—	1 : 2500 Kol. meist erst nach 48°	1 : 20 000
Klinger	4 proz. Agar mit 1 proz. Liebigs Fleischextrakt und Leitungswasser hergestellt	Normalnatronlauge	1 proz. Normalnatronlauge unter d. Phenolphthaleinneutralp.	Nr. 120	1 : 1200	1 : 1400 spärliche kaum sichtbare Kol.	1 : 1800	1 : 2000 spärliche kaum sichtbare Kol.	1 : 2000

Nach 24 Stunden

senen Agar die berechneten Mengen Normalnatronlauge — nur bei kleinen Mengen Agar der gröfseren Genauigkeit wegen 1/5 Normalnatronlauge — zugesetzt. Der unverminderte Alkaligehalt der Natronlauge wurde vor jedesmaligem Gebrauche durch Titrierung gegen 1/5 Normal- resp. Normalschwefelsäure festgestellt. Der Lakmusneutralpunkt des Agars lag bei 0,5—0,6% Normalnatronlauge, der Phenolphthaleinneutralpunkt bei 1,9—2,0% (einmal bei 2,2%) Normalnatronlauge; also lag der Lakmusneutralpunkt 1,3—1,5% (1,6—1,7%) Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte gegenüber etwa 1,6—1,8% des von Klinger verwendeten Agars. Wie viel Prozent Normalnatronlauge bis zum Phenolphthaleinneutralpunkte verbraucht wurden, darüber gibt Klinger nichts an. Nach dem Neutralisieren wurde der Agar zur Ausscheidung der Salze in ein kochendes Wasserbad gestellt und dann im Dampftopf durch Watte filtriert. Darnach wurde das Malachitgrün in wässeriger Lösung in der berechneten Menge zugesetzt. Gröfseren Mengen Agars wurde Malachitgrün Nr. 120 auch in Substanz hinzugefügt, dann aber aus den bei Klinger angeführten Gründen erst nach dem Erkalten des Agars, der dann noch einmal verflüssigt werden mufste. Wurde der fertige Malachitgrünagar auf Röhren gefüllt, so genügte es, diese einmal 15 Minuten zu sterilisieren.

Zur Verwendung kamen drei Sorten Malachitgrün von den Höchster Farbwerken.

Malachitgrün Kristalle extra	=	chemisch reines oxalsaures Salz des Malachitgrüns.
Malachitgrün Kristalle superfein	=	chemisch reines Chlorzinkdoppelsalz d. Malachitgrüns.
Malachitgrün Nr. 120	=	chemisch reines Chlorzinkdoppelsalz d. Malachitgrüns + ca. 95,2% Dextrin.

Malachitgrün extra und superfein wurden als 1 pro m., Malachitgrün Nr. 120 als 1 oder 2 proz. Lösungen in sterilem destillierten Wasser angewendet.

Die Versuchsanordnung war im wesentlichen dieselbe wie bei Jorns. Von 18—24stündigen Bouillonkulturen des Typhusstammes 101 und des Kolistammes F wurden mittels Tropfgläsern Verdünnungen in sterilem Leitungswasser hergestellt und mit gleicher Tropfenzahl je zwei Schalen (ca. 9 cm Durchmesser) von gewöhnlichem Agar und Malachitgrünagar gegossen. Die Kolibazillen wurden in — meist erheblich — gröſserer Menge ausgesät als die Typhusbazillen, um den wirklichen Verhältnissen nach Möglichkeit Rechnung zu tragen. Durch Vergleichen der Zahl der ausgewachsenen Kolonien wurde das Verhältnis von Aussaat zu Ernte bestimmt; die zweite Schale diente zur Kontrolle für die gleichmäſsige Aussaat.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis der Versuche über die günstigste Reaktion des Malachitgrünagars für die Typhusbazillen.

Tabelle II.

Malachitgrün Nr. 120, 1 : 2000.

Reaktion des Agars in Prozent Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.	Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 42 Std.	Aussaat	Ernte nach 42 Std.
2,2 *	200	44 = 22 %	438	215 = 49,1 %
1,8 *	200	21 = 10,5 »	438	0
1,4 *	200	18 = 9 »	438	0
1,3 (Lakmusneutral)	363	42 = 11,6 »	2456	0
1,0	363	48 = 13,2 »	2456	0
0,8	363	59 = 16,3 »	2456	0
0,6 *	200	27 = 13,5 »	438	275 = 62,8 %

Der Phenolphthaleinneutralpunkt lag bei 1,9 % Normalnatronlauge, bei den mit * bezeichneten bei 2,2 %.

Zum Vergleich gebe ich einen Teil der Tabelle I aus der Klingerschen Arbeit wieder.

Malachitgrün Nr. 120 (Höchst).

Menge des Malachitgrüns in Prozent	0,07 %		0,06 %		0,05 %	
Reaktion des Agars in Prozent	Typh.	Koli	Typh.	Koli	Typh.	Koli
Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.	nach 24 Std.		nach 24 Std.		nach 24 Std.	
1,8 % (Lakmusneutral)	±	+	+	+	+	+
1,4 %	+	0	+	±	+	+
1,2 »	+	0	+	0	+	±
1,0 »	+	0	+	0	+	±
0,8 »	+	0	+	0	+	±
0,4 »	+	±	+	+	+	+

+ zahlreiche, gut ausgewachsene Kolonien,
± spärliche, kaum sichtbare Kolonien,
0 kein Wachstum.

Es geht daraus hervor, dafs bei stärker alkalischer Reaktion ein etwas höherer Prozentsatz von Typhusbazillen auswächst als auf lakmusneutralem Malachitgrünagar, dafs aber die Kolibazillen auch bei lakmusneutraler Reaktion vollständig zurückgehalten werden, während sie nach Klinger mindestens ebenso üppig wachsen wie die Typhusbazillen. Nur der überhaupt nicht mit Natronlauge versetzte — sauer reagierende — und der stark — fast bis zum Phenolphthaleinneutralpunkte — alkalisierte Malachitgrünagar begünstigte das Wachstum der Kolibazillen mehr als das der Typhusbazillen.

Auffallend war, dafs das Verhältnis von Aussaat zu Ernte so sehr hinter dem von Jorns angegebenen zurückblieb, der bei einer Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 von 1 : 2500 dieses wie 2 : 1 fand. Auch die von Klinger — Tabelle II in der Klingerschen Arbeit — angegebenen Zahlen der ausgewachsenen Typhusbazillen bleiben hinter den von Jorns erzielten Ernten bedeutend zurück.

Da bei Jorns und Klinger bei einer Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 von 1 : 2500 resp. 1 : 2000 Kolibazillen schon etwas wuchsen (siehe Tabelle I und Tabelle I der

Klingerschen Arbeit), sie aber bei meinen Versuchen auf Agar von bestimmter Reaktion bei 1 : 2000 noch vollständig zurückgehalten wurden, wurde versucht, ob sich durch Heruntergehen mit der Konzentration des Malachitgrüns das Verhältnis von Aussaat zu Ernte der Typhusbazillen bessern liefse. Die Versuche ergaben folgendes:

Tabelle III.

Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp. Malachitgrün Nr. 120.

Konzentration des Malachitgrüns	Typhus			Koli		
	Aussaat	Ernte		Aussaat	Ernte	
		nach 22 Std.	nach 45 Std.		nach 22 Std.	nach 45 Std.
1 : 2500	900	95 = 10,6 %	100 = 11,1 %	2 300	0	0
1 : 3000	900	106 = 11,8 »	106 = 11,8 »	2 300	0	0
1 : 4000	91	—	24 = 26,4 »	66 000	—	9 = 0,014 %
1 · 4167	900	134 = 14,8 »	146 = 16,2 »	2 300	0	0 (auf d. 2. Schale 1)
	326	59 = 18,1 »	66 = 20,2 »	6 800	3 = 0,04 %	40 = 0,6 %
1 : 5000	500	71 = 14,2 »	73 = 14,8 »	2 730	0	7 = 0,3 »
	326	104 = 31,9 »	104 = 31,9 »	6 800	100 = 1,5 »	500 = 7,4 »
1 : 6250	500	96 = 19,2 »	—	2 730	945 = 35 »	—
1 : 7700	500	130 = 26 »	—	2 730	983 = 36 »	—

Jorns.

Konzentration des Malachitgrüns	Typhus		Koli
	Aussaat	Ernte	
1 : 2500	337	188 = 55,8 %	—
1 : 3000	14 397	10 075 = 69,8 »	deutliches Wachstum

Es wurden also auch mit bedeutend schwächeren Konzentrationen des Malachitgrüns Nr. 120, als Jorns anwendete, seine günstigen Ernten nicht erreicht. Es wurde beobachtet, dafs bei derselben Konzentration des Malachitgrüns die verschiedenen Ernten in ziemlich weiten Grenzen schwankten (siehe 1 : 5000), so dafs mitunter die Ernte bei einer höheren Konzentration

gröfser war als bei einer niedrigeren (siehe 1 : 4000, 1 : 4167 und 1 : 5000). Dem besseren Wachstum des Bacillus typhi entsprach jedesmal auch eine Begünstigung des Bacillus coli. Es wurde ferner festgestellt, dafs es für das Wachstum der Typhusbazillen wenig ausmacht, wo die Konzentration des Malachitgrüns zwischen 1 : 2000 und 1 : 5000 liegt. Mit Bezug auf das Wachstum der Kolibazillen ist hervorzuheben dafs, während bei einer Verdünnung von 1 : 4000 bis 1 : 5000 höchstens ein geringes Wachstum, meist erst nach ca. 48 Stunden, stattfindet, bei einer Konzentration von 1 : 6250 die Ernte gleich auf 35 % hochschnellt.

Bei einem Versuche, der mit verschiedenen Typhusstämmen zur Vergleichung der auf Malachitgrünagar erzielten Ernten angestellt wurde, zeigte es sich wiederum, dafs in keinem Falle das günstige Ergebnis Jorns' erreicht wurde und ferner, dafs die Ernten ganz verschieden ausfielen, wie die Zusammenstellung in folgender Tabelle zeigt.

Tabelle IV.

Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp. Malachitgrün Nr. 120, 1 : 4000.

	Aussaat	Ernte nach 45 Std.
Typhus Friedrichshain .	308	40 = 13 %
» Halle	123	36 = 29,3 »
» Drigalski . . .	181	10 = 5,5 »
» Trier I . . .	344	12 = 3,5 »
» Milz	324	34 = 10,5 »
» Niedlich . . .	207	53 = 25,6 »
» Jürgens . . .	267	31 = 11,6 »
» Timm	264	43 = 16,3 »
» Musehold . .	391	16 = 4,1 »
» 101	91	24 = 26,4 »
Koli F.	66 000	9 = 0,014 »

Das verschiedene Verhalten verschiedener Typhusstämme hinsichtlich des Wachstums auf demselben Malachitgrünagar hat auch Klinger in Tabelle II seiner Arbeit beschrieben, von der ich einen Teil mit einigen Zusätzen — die Umrechnung der

Ernte in Prozente — wiedergebe. Jorns, der sechs verschiedene Typhusstämme benutzte, erhielt stets übereinstimmende Resultate.

Malachitgrünagar 1,0 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.

Menge des Malachitgrüns in Proz.	0,06 %	0,05 %	Zahl der Kolonien auf der Lakmuspl.
Koli	0	600 kaum sichtbare Kol. = 6 %	unzählbar, mindestens 10 000
Typhus. . .	300 kleine Kol., die gröfsten stecknadelkopfgrofs = 3 %	800 meist gut ausgewachsene Kol. = 8 %	»
Typhus Ho .	500 gut ausgewachsene Kol. = 5 %	3000 gut ausgewachsene Kol. = 30 %	ca. 10 000
Typhus Be .	800 gut ausgewachsene Kol. = 20 %	1000 gut ausgewachsene Kol. = 25 %	» 4 000
Typhus Co .	0	26 gut ausgewachsene Kol. = 0,65 %	» 4 000

Mit Bezug auf die Jornssche Angabe, dafs eine ca. 4 Wochen alte wässerige Lösung von Malachitgrün Nr. 120 die wachstumhemmende Wirkung auch gegenüber Typhusbazillen verstärkte, habe ich folgendes feststellen können.

Tabelle V.

Malachitgrün Nr. 120, 1 : 2000, 2 proz. wässerige Lösung.

Reaktion des Agars in Proz Normalnatronlauge unter d. Phenolphthaleinneutralp	13 Tage alte Lösung				frisch bereitete Lösung			
	Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 43 Std.	Aussaat	Ernte nach 43 Std.	Aussaat	Ernte nach 43 Std.	Aussaat	Ernte nach 43 Std.
1,3 (Lakmusneutral)	363	42 = 11,6 %	2456	0	363	0 (auf d. 2. Schale 1)	2456	0
1,0	363	48 = 13,2 »	2456	0	363	0 (auf d. 2. Schale 2)	2456	0
0,8	363	59 = 16,3 »	2456	0	363	7 = 1,9 %	2456	0

Es trat also bei der frisch zubereiteten Lösung die wachstumhemmende Wirkung auf die Typhusbazillen stärker hervor; zu

beobachten ist auch hierbei der Einfluſs der Reaktion des Agars. Bei denselben 18 resp. 5 Tage alten Lösungen war ein nennenswerter Unterschied in der Wirkung nicht mehr festzustellen.

Bei Malachitgrün superfein und extra verhielt sich das Wachstum der Typhus- und Kolibazillen bei verschiedenen Konzentrationen folgendermaſsen.

Tabelle VI.

Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.

Konzentration des Malachitgrüns	Malachitgrün superfein				Malachitgrün extra			
	Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 22 Std.	Aussaat	Ernte nach 22 Std.
1 : 50 000	334	7 = 2,1 %	21000	0	500	62 = 12,4 %	2730	0 (auf d 2.Schale!)
1 : 100 000	334	45 = 13,5 »	21000	0	500	86 = 17,2 »	2730	1060 = 39 %
1 : 150 000	500	88 = 17,6 »	2730	990 = 36 %				
1 : 200 000	500	202 = 40 »	2000	2000 = 100 »				

Es blieb also auch hier die erzielte Ernte von Typhusbazillen gegenüber den Jornsschen Erfolgen sowohl mit Malachitgrün Nr. 120 als auch mit Malachitgrün Ia (Aussaat: Ernte = 4 : 1) erheblich zurück.

Da Malachitgrün Nr. 120 ca. 95,2 % Dextrin enthält, wurden Versuche angestellt, welchen Einfluſs ein höherer Dextringehalt des Malachitgrünagars auf das Wachstum der Typhus- und Kolibazillen ausübte. Als Malachitgrün wurde das dextrinfreie Malachitgrün superfein und Malachitgrün extra verwendet, von denen das erste auch im Malachitgrün Nr. 120 enthalten ist.

Das Dextrin wurde in hochprozentiger (25 %) wässeriger Lösung angewendet, um eine Verdünnung des Agars möglichst zu vermeiden; die Lösung wurde folgendermaſsen hergestellt: 25 g Dextrin pur. von Schering wurden in 100 ccm destilliertem

Wasser im kochenden Wasserbade gelöst, filtriert und im Dampftopfe sterilisiert. Die berechnete Menge wurde dem flüssigen neutralisierten filtrierten Agar zusammen mit dem Malachitgrün mittels steriler Pipette zugesetzt.

Tabelle VII.

Reaktion des Agars 0,8% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleïnneutralp. — Malachitgrün superfein.

Menge des Dextrins in Prozent	Konzentration des Malachitgrüns	Typhus		Koli	
		Aussaat	Ernte nach 69 Std.	Aussaat	Ernte nach 69 Std.
—	1 : 50 000	334	11 = 3,3%	21 000	0
0,2	1 : 50 000	334	26 = 7,8 »	21 000	0
0,5	1 : 50 000	334	36 = 10,8 »	21 000	0
1,0	1 : 50 000	334	42 = 12,6 »	21 000	0
2,0	1 : 50 000	334	55 = 16,5 »	21 000	0

Konzentration des Malachitgrüns	Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.
1 : 100 000	334	45 = 13,5%	21 000	0

Es wuchsen also bei Dextrinzusatz mehr Typhusbazillen aus als ohne und zwar wurde die Ernte um so gröfser, je mehr Dextrin zugesetzt wurde. Bei Zusatz von 1% Dextrin konnte die Konzentration des Malachitgrüns schon auf das doppelte erhöht werden, um das Auswachsen der gleichen Menge von Typhusbazillen zu erzielen. Von den in bedeutend gröfserer Menge ausgesäten Kolibazillen war auch nach 69 Stunden kein einziger ausgewachsen. Das Wachstum der Typhusbazillen war jedoch verhältnismäfsig gering.

Um nun einen höheren Prozentsatz von Typhusbazillen zum Auswachsen zu bringen, wurde bei Zusatz von 1 und 2% Dextrin mit der Konzentration des Malachitgrüns weiter heruntergegangen; dabei zeigte es sich, dafs Bacillus coli nicht mehr zurückgehalten wurde, sondern auch auswuchs und zwar in schneller Steigerung, so dafs er Bacillus typhi bald an Menge erreichte.

Tabelle VIII.

Reaktion des Agars 0,8% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp. Malachitgrün superfein.

Konzentration des Malachitgrüns	Menge des Dextrins in Prozent	Typhus		Koli	
		Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.
1 : 100 000	1	334	62 = 18,6 %	21 000	2100 = 10 %
1 : 100 000	2	334	72 = 21,6 »	21 000	4500 = 21 »

Man sieht aus dem Versuche, dafs bei der nur halb so starken Konzentration des Malachitgrüns der Gewinn hinsichtlich der Typhusbazillen gegenüber dem vorigen Versuche (18,6 gegen 12,6 resp. 21,6 gegen 16,5%) nur gering ist, während Bacillus coli in erheblicher Menge auswächst. Ferner zeigt dieser Versuch, dafs es für Typhusbazillen wenig ausmacht, ob der Dextringehalt 1 oder 2% ist, dafs dagegen die Koliernte durch den doppelt so hohen Dextringehalt auch auf das Doppelte steigt. Infolgedessen sah ich mich nicht veranlafst, bei meinen Versuchen über einen Dextringehalt von 2% hinauszugehen.

Auch bei Dextrinzusatz zeigt sich der Vorteil der Reaktion des Agars von 0,8% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte gegenüber der lakmusneutralen, in diesem Falle 1,4% Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte.

Tabelle IX.

Malachitgrün superfein 1 : 80000.

	Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.				Lakmusneutraler Agar (1,4 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp.).			
Menge d. Dextrins in Prozent	Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.	Aussaat	Ernte nach 20 Std.
0,5	500	68 = 13,6 %	2000	0	500	46 = 9,2 %	2000	70 = 3,5 %
1,0	500	95 = 19,0 »	2000	0 (auf d. 2. Schale 1)	500	80 = 16,0 »	2000	836 = 42 »
2,0	500	91 = 18,2 »	2000	7 = 0,35 %	500	101 = 20,2 »	2000	1336 = 67 »

Es zeigt sich auch hier wieder — wie bei der Anwendung des Malachitgrüns Nr. 120 (Tabelle II) —, dafs die Typhusbazillen auf dem stärker alkalischen Agar nur wenig besser wachsen als auf dem lakmusneutralen; dagegen wird Bacillus coli durch die lakmusneutrale Reaktion sehr begünstigt. Auch der ganz verschiedene Einflufs, den die Erhöhung des Dextringehaltes von 1 auf 2 % auf Typhus- und Kolibazillen ausübt, tritt hier wieder sehr deutlich, wie im vorigen Versuche, hervor.

Schliefslich ist noch das verschiedene Verhalten von Typhus- und Kolibazillen bei kürzerer und längerer Bebrütungszeit zu erwähnen. Während die innerhalb 24 Stunden ausgewachsenen Typhuskolonien auch bei weiterem Aufenthalt im Brütschrank kaum eine Vermehrung erfuhren, wurde bei Bacillus coli festgestellt, dafs, wenn auch nach ca. 24 Stunden noch gar keine oder doch nur ganz vereinzelte Kolonien ausgewachsen waren, bei weiterer Bebrütung, nach 2—3 Tagen, ein recht erheblicher Prozentsatz ausgewachsen war.

Tabelle X.

Reaktion des Agars 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralp., Malachitgrün superfein.

Konzentration d. Malachitgrüns	Ohne Dextrin				+ 0,2 % Dextrin				+ 0,5 % Dextrin			
	Typhus		Koli		Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 20 Std. / » 69 »	Aussaat	Ernte nach 20 Std. / » 69 »	Aussaat	Ernte nach 20 Std. / » 69 »	Aussaat	Ernte nach 20 Std. / » 69 »	Aussaat	Ernte nach 20 Std. / » 69 »	Aussaat	Ernte nach 20 Std. / » 69 »
1 : 100 000	334	45 = 13,5 % 47 = 14,1 »	21 000	0 3 = 0,014 %	334	48 = 14,4 % 57 = 17,1 »	21 000	0 (aufd 2 Schalei) 1200 = 5,7 %	334	60 = 18 % 62 = 18,6 %	21 000	11 = 0,05 % 1056 = 5 »

Konzentration d. Malachitgrüns	+ 1,0 % Dextrin				+ 2,0 % Dextrin			
	Typhus		Koli		Typhus		Koli	
	Aussaat	Ernte nach 22 Std. / » 47 »	Aussaat	Ernte nach 22 Std. / » 47 »	Aussaat	Ernte nach 20 Std. / » 44 »	Aussaat	Ernte nach 20 Std. / » 44 »
	Malachitgrün extra.							
1 : 80 000	500	42 = 8,4 % 48 = 9,6 »	2730	22 = 0,8 % 400 = 15 »	500	91 = 18,2 % —	2000	7 = 0,35 % 779 = 39 »

Zusammenfassung.

1. Die stärker alkalische Reaktion des Agars — 0,8 % Normalnatronlauge unter dem Phenolphthaleinneutralpunkte — begünstigt das Wachstum der Typhusbazillen mehr und verhindert das Auswachsen der Kolibazillen besser als lakmusneutrale Reaktion bei gleicher Konzentration des Malachitgrüns; sie hat aber nicht die ausschlaggebende Bedeutung, die Klinger ihr beimifst.
2. Das Verhältnis von Aussaat: Ernte der Typhusbazillen = 2 : 1 resp. 4 : 1, wie bei Jorns, konnte bei den untersuchten Typhusstämmen auf keine Weise erreicht werden; die Ernte belief sich unter den günstigsten Verhältnissen nur auf ca. 20 %.
3. Während bei Klinger und Jorns Bacillus coli schon bei einer Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 von 1 : 2000 resp. 1 : 2500 nicht mehr vollständig zurückgehalten wurden, trat dies bei meinen Versuchen erst bei einer Verdünnung von 1 : 4000 — 1 : 5000 ein.
4. Malachitgrün superfein und extra waren in der Wirkung fast gleich, aber verschieden von dem von Jorns angewendeten Malachitgrün Ia.
5. Die keimtötende Wirkung stärkerer Malachitgrünkonzentrationen wurde bei Malachitgrün superfein und extra bis zu einem gewissen Grade durch Dextrinzusatz abgeschwächt, so dafs durch stärkere Konzentrationen mit Dextrinzusatz dasselbe erreicht wurde wie durch schwächere ohne Dextrinzusatz. — Die im Malachitgrün Nr. 120 enthaltene Dextrinmenge ist absolut zu gering, um die Dextrinwirkung hervorzurufen.
6. Durch den Dextrinzusatz — namentlich höheren Grades — wurde Bacillus coli erheblich mehr begünstigt als Bacillus typhi; doch trat diese Wirkung erst bei einem bestimmten Grade der Verdünnung des Malachitgrüns ein.
7. Eine Überlegenheit der beiden reinen Malachitgrünsorten gegenüber dem Malachitgrün Nr. 120 wurde nicht beobachtet.

Bei den Versuchen mit künstlichen Typhusstühlen, d. h. normaler Stuhl, dem bestimmte Mengen Typhusbazillen zugesetzt waren, wurde folgendermafsen verfahren:

Der Stuhl wurde mit etwa der gleichen Menge Leitungswasser verrührt und von dieser Aufschwemmung oder dem von ihr hergestellten Filtrate eine abgemessene Menge und eine bestimmte Anzahl Tropfen der wie früher bereiteten Typhusverdünnung auf zwei — bei den ersten Versuchen nur eine — grofsen Malachitgrünagarschalen (α und β) mit dem Glasspatel (nach Drigalski) ausgestrichen. Die Schalen hatten einen Durchmesser von ca. 18 cm, wurden mit 40—50 ccm Malachitgrünagar beschickt und blieben bis zur vollständigen Erstarrung des Agars offen stehen; eine Verunreinigung durch Luftkeime tritt selbst bei stundenlangem Offenstehen nicht ein.

Zur Bestimmung der Zahl der ausgesäten Typhusbazillen und Stuhlkeime und des Grades der Zurückhaltung wurden wie früher Schalen (von ca. 9 cm Durchmesser) mit gewöhnlichem resp. Malachitgrünagar gegossen; nur bei den ersten Versuchen wurde der Grad der Zurückhaltung der Stuhlkeime auf einer grofsen mittels Oberflächenausstrich besäten Malachitgrünagarschale festgestellt.

Nach 16—24 Stunden wurde die grofse Malachitgrünagarschale, bei zwei Schalen meist die weniger dicht bewachsene β-Schale, nur wenn auf ihr zu wenig Kolonien waren, die α-Schale, nach Lentz u. Tietz in der Modifikation von Jorns mit 5 ccm steriler 0,9 proz. Kochsalzlösung — nur bei den ersten Versuchen mit steriler Bouillon — abgeschwemmt und je nach der Dichte der Schalen mehr oder weniger von der Abschwemmung auf 4 Endo-Agarschalen (α—δ) von ca. 9 cm Durchmesser ausgestrichen.

Der Endo-Agar wurde ebenfalls mit Fleischextrakt, nach dem Beispiele Klingers, sonst genau nach der Vorschrift des Erfinders bereitet, bis auf die Neutralisation, die — wie beim gewöhnlichen Agar — nach der Angabe von Clauditz schon vor dem Filtrieren stattfand. Ich habe mit Endo- und nicht

mit Drigalski-Agar gearbeitet aus den Gründen, die Endo [7], Petkowitsch [8], Clauditz [9], Klinger u. Marschall [10] als seine Vorzüge für den Typhusbazillennachweis gegenüber dem Drigalski-Agar übereinstimmend anführen. Nur in der Frage nach der wachstumshemmenden Wirkung des Endo- u. Drigalski-Agars auf die Typhusbazillen und Stuhlkeime gehen die Ansichten auseinander, so dafs nach Clauditz die Stuhlkeime auf »Endo« in bedeutend gröfserer Zahl auswachsen als auf »Drigalski«, während nach Klinger u. Marschall der Endo-Agar gerade eine erheblich stärkere Hemmung auf die Fäcesbakterien ausübt. Andrerseits wachsen Typhusbazillen nach Clauditz auf »Endo« ebenso oder vielleicht noch etwas mehr aus als auf gewöhnlichem Agar; auf »Drigalski« dagegen viel weniger; im Gegensatze dazu sagt Klinger: »Diese Wachstumsbehinderung — (der Fäcesbakterien auf Endo-Agar) — scheint sich auch auf schwächere Individuen des Typhusbazillus zu erstrecken . . . . bisweilen ist nur die Hälfte angewachsen.« Die Entscheidung dieser Frage ist um so wichtiger, als Lentz u. Tietz und vor allem Klinger (siehe Tabelle II seiner Arbeit) bei Anwendung des Malachitgrünagars die Menge der ausgesäten Keime nach der Zahl der von Drigalski-Agar geernteten Kolonien bestimmen.

Nach 16—20 Stunden wurde die orientierende Agglutinationsprobe mit den typhusverdächtigen Kolonien (in Tabelle XI als Ty.?-Kol. bezeichnet) direkt vom Endo-Agar angestellt, wobei festgestellt wurde, dafs jedesmal die ihrem Aussehen nach als Typhus anzusprechende Kolonie auch wirklich Typhus war, wiederum ein Beweis dafür, wieviel leichter infolge der weitgehenderen Differenzierung die Auffindung von Typhuskolonien auf Endo- als auf Drigalski-Agar ist. Nach dem positiven Ausfall der orientierenden Agglutinationsprobe wurde ein Agarstrich zur Anstellung der Agglutinationsprobe im Reagenzglase angelegt. Zur Agglutinationsprobe wurde trockenes agglutinierendes Typhus-Pferdeserum aus dem Kgl. Institute für Infektionskrankheiten vom Titer 1 : 8000 verwendet. Die orientierende Agglutinationsprobe wurde als positiv angesehen, wenn bei einer

Verdünnung des Serums von 1 : 500 sofort deutliche Haufenbildung eintrat. (Die Angaben über die Verdünnungen [mit 0,9 proz. steriler Kochsalzlösung] beziehen sich auf flüssiges Serum, das erhalten wurde durch Auflösen von einem Teil trockenen Serums in neun Teilen sterilen destillierten Wassers.) Die entscheidende Agglutinationsprobe im Reagenzglase wurde mit den Verdünnungen 1 : 500, 1 : 5000, 1 : 7500 und 0,9 proz. Kochsalzlösung angestellt. Bei beiden Agglutinationsproben wurde eine unter gleichen Bedingungen gewachsene Typhuskultur zum Vergleich in derselben Weise behandelt. Da derselbe Typhusstamm mit dem Stuhle ausgesät und zur Kontrolle benutzt wurde, wurde von weiterer Identifizierung durch Nährböden abgesehen.

(Tabelle siehe Seite 392.)

Ich konnte also noch bei einem Verhältnis der Typhusbazillen: Stuhlkeimen = 1 : 17 000, 1 : 25 000 und 1 : 50 000 den Nachweis der Typhusbazillen führen, während es Jorns nach dem Verfahren von Lentz u. Tietz nur noch bei 1 : 8000 gelang. Dafs bei meinen Versuchen das Verhältnis der Typhusbazillen zu den Stuhlkeimen als sehr ungünstig anzusehen ist, geht aus der Angabe von Lentz u. Tietz hervor, die einen Stuhl, von dem auf Drigalski-Agar das Verhältnis von Typhusbazillen: Stuhlkeimen = 4 : ca. 2000 ist, als relativ arm an Typhusbazillen bezeichnen.

Das wesentlich Neue bei meinen Versuchen ist die erheblich gröfsere Menge des Aussaatmaterials. Lentz u. Tietz und Klinger säten wenig aus. Lentz u. Tietz versetzten Stuhl von Typhuskranken mit der doppelten Menge Kochsalzlösung und verrieben davon 0,1—0,2 ccm mit dem Glasspatel auf eine Malachitgrünplatte von 10 cm Durchmesser und 2 Drigalski-Platten von 20 cm Durchmesser. Klinger brachte eine grofse Öse einer Typhusstuhlaufschwemmung, die je nach der Konsistenz des Stuhles durch feines Verreiben mit mehr oder weniger steriler Kochsalzlösung hergestellt war, auf 2 bis

Tabelle XI

Art u. Konzentration des Malachitgrüns	der Typhusverdünnung: Aussaatmenge	der Typhusverdünnung: Keimzahl	der Stuhlaufschwemmung: Aussaatmenge	der Stuhlaufschwemmung: Keimzahl	Gesamtaussaatmenge in ccm	Tyb. : Stuhlkeime	Zahl der besäten Schalen	Aussaat: Tyb.	Aussaat: Stuhlkeime	Ernte: Tyb.	Ernte: Stuhlkeime	Nach Stunden	Aussehen der abgeschwemmten Malachitgrünagarschalen	Aussaatmenge auf die Endoschalen	Aussehen der Endoschalen	nach Stunden	Nachweis der Tyb.
M. Nr. 120 1 : 2000	5 Tr.	165	15 Tr. (Filtrat)	800 000	1,4	1 : 5 000	1	165	103	—	50 = 0,00 625 % (Oberflächenausstrich)	16	unter 100 Kol.	5 Tr.	2 grofse Schal., beide dicht, mehrere Ty. ?-Kol.	16	+
M. Nr. 120 1 : 2500	5 Tr.	400	0,3 ccm	2 250 000	0,65	1 : 5 600	2	400	32 000	40 = 10 %	13 = 0,04 %	24	dicht	4 Ösen	auf β u. γ mehrere Ty. ?-Kol.	42	+
M. superf. 1 : 80000	5 Tr.	140	10 Tr. (Filtrat)	2 430 000	1,0	1 : 17 000	1	140	13,5	—	30 000 = 1,23 % (Oberflächenausstrich)	20	dicht	5 Ösen	δ dicht 1 Ty. ?-Kol.	18	+
M. Nr. 120 1 : 2500	5 Tr.	90	10 Tr.	2 200 000	1,0	1 : 25 000	2	90	15 400	26 = 29 »	450 = 2,9 %	21	dicht	2 Ösen	auf γ die wenigsten Kol. (ca. 125) 1 Ty. ? [1]	20	+
M. Nr. 120 1 : 2500	5 Tr.	80	0,4 ccm	4 000 000	0,75	1 : 50 000	2	80	27 300	4 = 5 »	2,5 = 0,09 %	22	auf β wenig Kol., α abgeschw.	2 Ösen	auf γ mehrere Ty. ?-Kol.	17	+
M. Nr. 120 1 : 2500	5 Tr	96	0,6 ccm (Bouillonanreicherung)	18 500 000	0,95	1 : 190 000	2	96	130 000	32 = 33⅓ »	60000 = 46 »	18	sehr dicht	2 Ösen	6 kleine Schal., keine Ty. ?-Kol.	22	—

[1]) 2 Ösen auf 2 grofse Drigalski-Schalen, keine Ty. ?-Kol.

4 Platten von 20 cm Durchmesser. Trotzdem konnten Lentz u. Tietz 8 mal Typhusbazillen noch nachweisen, wo Drigalski versagte (zitiert nach Klinger) und Klinger bei der Untersuchung von 35 Stuhlproben von Typhuskranken

durch Drigalski-Agar	12	mal	= 34,3 %
» Endo-Agar . .	15	»	= 42,9 »
» Vorkultur auf Malachitgrün-Agar	24	»	= 68,6 »

Es ist zu erwarten, dafs bei Erhöhung der Aussaatmenge das Malachitgrünverfahren noch bessere Resultate liefern wird, da der Grund für den Mifserfolg oft darin liegt, dafs in der geringen Aussaatmenge überhaupt keine Typhusbazillen enthalten sind, ein Umstand, auf den auch Klinger hinweist. Es ist nach meinen Versuchen sehr gut möglich 0,5—1,0 ccm auf zwei grofse Malachitgrünagarschalen auszusäen. Dabei sind die Nährböden billig, schnell und ohne Schwierigkeiten herzustellen und jede Anwendung des Verfahrens verbraucht nur 80—100 ccm Malachitgrün- und 30—40 ccm Endo-Agar. Es wäre ganz unmöglich, eine gleich grofse Aussaatmenge auf Endo- oder gar auf Drigalski-Agar zu bringen, ohne die Zahl der Schalen derart zu steigern, dafs schon der Verbrauch an Nährboden allein dieses Verfahren verbieten würde. Der Malachitgrünagar hat den grofsen Vorzug, dafs er in geeigneter Konzentration auf die Stuhlkeime sehr stark wachstumhemmend wirkt, wenn auch dabei, wie schon Jorns und Klinger feststellten, niemals alle ausgesäten Typhusbazillen auswachsen, sondern nach meinen Versuchen sogar nur ein geringer Prozentsatz. Der Nachweis der Typhusbazillen gelingt jedoch auch bei absolut geringer Zahl der ausgesäten Bazillen. Die Möglichkeit, viel Stuhlmaterial zur Aussaat verwenden zu können, dürfte besonders für Stuhluntersuchungen bei Typhusrekonvaleszenten wertvoll sein, da hier die mit kleinen Aussaatmengen erzielten Erfolge recht ungünstig sind. Klinger konnte in 17 Stuhlproben von Typhusrekonvaleszenten die Bazillen durch Drigalski-Agar, Endo-Agar, Vorkultur auf Malachitgrün-Agar

nur 2, 2 und 3 mal nachweisen. Den Nachteil, den das Malachitgrünverfahren gegenüber dem einfachen Plattenverfahren ebenso wie jede andere Vorkultur hat, dafs die Stellung der Diagnose um ca. 24 Stunden verzögert wird, möchte ich bei der grofsen Sicherheit, die diese Methode bietet, nicht allzu hoch bemessen.

Es ist noch zu erwähnen, dafs ich die Angaben Löfflers und Lentz u. Tietz über Unterscheidungsmerkmale der Typhuskolonien auf Malachitgrünagar nicht bestätigen kann; sie waren in keiner Weise weder nach 24 noch nach 48 Stunden von Koli- oder anderen Kolonien von Stuhlkeimen zu unterscheiden. Die Umwandlung des Grüns des Agars in helles Gelb, die Löffler und Lentz u. Tietz als eine spezifische Eigenschaft der Typhusbazillen und der Alkalibildner hinstellen, habe ich auch beobachtet, aber als eine Eigenschaft, die allen Bakterien zukam und auch nur bei dichtbewachsenen Schalen. Den Nachweis, dafs der dem Nährboden entzogene Farbstoff in den Kolonien abgelagert ist, kann man auf folgende Weise führen: Legt man eine solche Schale, auf der die Kolonien gelblichweifs und undurchsichtig sind, in eine Sublimatsalzsäurelösung — die im Institut gebräuchliche Desinfektionsflüssigkeit — so werden sämtliche Kolonien sofort intensiv dunkelgrün. Das Aufnehmen des Farbstoffes von den Kolonien erklärt auch die Notwendigkeit eine stärkere Konzentration des Malachitgrüns anzuwenden bei sehr starker Besäung, namentlich der Oberfläche, als bei Anlegung von Gufsschalen bei geringerer Aussaatmenge, bei welch letzterem Verfahren die Verteilung der Keime eine gleichmäfsigere und die Wachstumsbedingungen für die nicht an der Oberfläche liegenden schon an sich ungünstigere sind. Die wenigen von vornherein aufgehenden Kolonien entziehen in ihrer Umgebung dem Agar Farbstoff, wodurch den an dieser Stelle befindlichen geschädigten aber noch nicht abgetöteten Keimen ermöglicht wird, auf dem nunmehr für sie günstigeren Nährboden zu Kolonien auszuwachsen. Diese Kolonien bewirken nun wiederum dasselbe, so dafs schliefslich auf dem immer malachitgrünärmeren Agar viel mehr wächst, als nach der ursprünglichen Konzentration anzunehmen war.

Zusammenfassung.

1. Die für die praktische Verwendung geeignete Konzentration des Malachitgrüns Nr. 120 ist in Übereinstimmung mit Jorns und Klinger 1 : 2000 — 1 : 2500.
2. Malachitgrün superfein ist in entsprechend stärkerer Verdünnung ebenso gut brauchbar.
3. Die Stuhlaussaatmenge und damit die Leistungsfähigkeit der Malachitgrünmethode konnte erheblich gesteigert werden gegenüber den bisherigen Untersuchern.
4. Die Typhuskolonien sind auf Malachitgrünagar nicht von anderen Kolonien zu unterscheiden.
5. Als zweiter Nährboden hat sich Endo-Agar als sehr brauchbar erwiesen.
6. Der Malachitgrünagar eignet sich für die Fälle, in denen der Typhusbazillennachweis in sehr keimreichen Bakteriengemischen geführt werden soll, wo das Verhältnis der Typhusbazillen zu den Begleitbakterien sehr ungünstig, nicht aber die absolute Zahl der Typhusbazillen eine zu geringe ist; für die Fälle, bei denen nur auf einige wenige und vielleicht sogar noch dazu geschädigte Typhusbazillen in der Aussaatmenge gerechnet werden kann, eignet der Malachitgrünagar sich nicht, selbst dann nicht, wenn Begleitbakterien in geringer Menge vorhanden sind.

Herrn Geheimen Medizinalrat Professor Dr. Rubner sage ich für das Interesse an meiner Arbeit, Herrn Professor Dr. Ficker für seine stets freundliche Unterstützung aufrichtigen Dank.

Literatur.

1. Löffler, Neues Verfahren zum kulturellen Nachweise der Typhusbazillen in Faeces, Wasser, Erde. Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 36, Vereinsbeilage.
2. Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungsmethode für Typhus- nnd Paratyphusbazillen. Münchener med. Wochenschr., 1903, Nr. 49, S. 2139.
3. Jorns, Über die Brauchbarkeit des Malachitgrün-Nähragars zum Nachweise von Typhusbazillen. Hygienische Rundschau, 1904, 14. Jahrgang, Nr. 15, S. 713.
4 Klinger, Über neuere Methoden zum Nachweise des Typhusbazillus in den Darmentleerungen. Inaug.-Dissertat., Strafsburg 1904.
5. Ficker u. Hoffmann, Weiteres über den Nachweis von Typhusbazillen. Archiv f. Hygiene, Bd. 49, S. 229.
6. v. Drigalski u. H. Conradi, Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zeitschr. f. Hygiene, 1902, Bd. 39, S. 283.
7. S. Endo, Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbazillen. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1904, Bd. 35, S. 109.
8. Petkowitsch, Beitrag zur Frage des diagnostischen Wertes einiger Nährböden für die Typhusbakterien. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1904, Bd. 36, S. 304.
9. Clauditz, Untersuchungen über die Brauchbarkeit des von Endo empfohlenen Fuchsinagars zur Typhusdiagnose. Hygienische Rundschau, 1904, 14. Jahrgang, Nr. 15, S. 718.
10. F. Marschall, Die Bedeutung des Endoschen Nährbodens für die bakteriologische Typhusdiagnose. Zentralblatt f. Bakteriologie, 1905, Bd. 38, Heft 3.






UNIVERSITY O
biom,per bd.52-53
stack no.27
Archiv f ur Hygiene und B
3 1951 002